

パパニコロウ染色とメイギムザ染色による リンパ球系病変の純細胞形態学的観察法

群馬パース大学 保健科学部

蒲 貞行
CT 171, CFAC 444



COI開示
筆頭演者名: 蒲 貞行
本演題に関して開示すべきCOIはありません

FLOWER FESTIVAL COMMEMORATIVE PARK, Gifu, Japan. May 21, 2016

私は、1970年から細胞診業務に携わって以来、長くリンパ球系病変の細胞像の解析に関心を持って参りました。これは、私が愛知県がんセンター病院在籍中に叱咤激励を頂いた(故)須知泰山先生の卓越した病理診断の裏付け、ならびに(故)栗田宗次先生による造血系細胞の観察法の教授のご恩によるものと感謝しています。

リンパ球系病変の細胞像は多様であり、一般に「取っ付き難い」という印象をもたれています。確かに小型腫瘍細胞では良悪性の鑑別に苦慮する場合も多いと言えますが、甲状腺をはじめとする良悪性の鑑別では、針穿刺細胞診が臨床診断上の重要な一翼を担っています。そこで、この解説集では純細胞形態学的な良悪性の鑑別法として、以下の点を骨子として解説します。

1. 悪性リンパ腫の悪性性格は、核形不整と目立つ核小体に反映される。
2. 良性の小リンパ球は、小型類円形で、核小体が目立たない。
3. メイ・ギムザ染色では、とくに小型リンパ球系細胞での核形不整と核小体観察が難しい。
4. パパニコロウ染色では、油浸にて、「核形不整」と「核小体/核比」の観察が可能である。
5. リンパ球系病変の純細胞形態学的観察法として、リンフアデノグラムが有用である。
6. 良性病変では、一般に小リンパ球が主体(出現率50%以上)を成す。
7. 悪性リンパ腫では、一般に小リンパ球以外のリンパ球系細胞が主体を成す。
8. パパニコロウ染色は、核と核小体の観察により良悪性の鑑別に適している。
9. メイ・ギムザ染色は、細胞種別の分類により病変の亜型診断に適している。
10. 以上より、メイ・ギムザ染色とパパニコロウ染色の相補的併用が望ましい。

この鑑別診断の役割は、最初に標本を観る我々細胞検査士に課せられています。その意味で、この解説集が細胞検査士会HPに掲載され、日常業務に活用して頂ければ幸いです。

末筆となりましたが、本解説集の作成にあたり、節性病変は愛知県がんセンター病院例(在籍時)、甲状腺病変は隈病院例であり、謝辞は解説後のスライドに示させていただきます。

2017年8月 群馬パース大学 蒲 貞行

はじめに

リンパ球系病変の診断と治療は、免疫染色さらには遺伝子検査などに基づく**コンパニオン診断の時代**へと進みつつある。

FNAC [針穿刺細胞診]が、臨床的な**良悪性の鑑別のための第一選択**として、有用かつ重要な診断ツールであることは、今後も**不変**である。

その**診断精度を高める**ためには、**リンパ節捺印細胞診**に基づく基礎的な細胞所見を理解し、**FNAC**への応用力を備えることが望まれる。

悪性リンパ腫としての悪性所見は、一般に核形と核小体所見に反映する。今回、**良悪性の鑑別**のための、**純細胞形態学的着眼点**について解説する。

リンパ球系病変の診断と治療は、免疫染色さらには遺伝子検査などに基づくコンパニオン診断の時代へと進みつつあります。

しかしながら、それに先立ち、FNAC：針穿刺細胞診が、臨床的な良悪性の鑑別のための第一選択として有用かつ重要な診断ツールであることは、今後も不変と考えます。

その診断精度を高めるためには、リンパ節捺印標本に基づく、基礎的な細胞所見を理解し、FNACへの応用力を備えることが望まれます。

私は、悪性リンパ腫としての細胞所見は、一般に核形と核小体所見に反映するものと理解しています。

そこで、今回、良悪性の鑑別のための、純細胞形態学的着眼点につき解説いたします。

純細胞形態学的アプローチ

リンフアデノグラムの基本

■細胞診独自の良性病変と悪性リンパ腫の検討方法.

※(故)栗田 宗次博士から教授された方法.

- ・細胞観察：総合倍率1000倍 [油浸使用].
- ・構成細胞別出現率(%):リンパ球系細胞をカウント
[通常500～1000個]

■MG染色とPap染色のいずれでも、良悪の鑑別に利用できる.

純細胞形態学的アプローチとして、リンフアデノグラムを推奨できます。
リンフアデノグラムは、細胞診独自の良性病変と悪性リンパ腫の検討方法です。

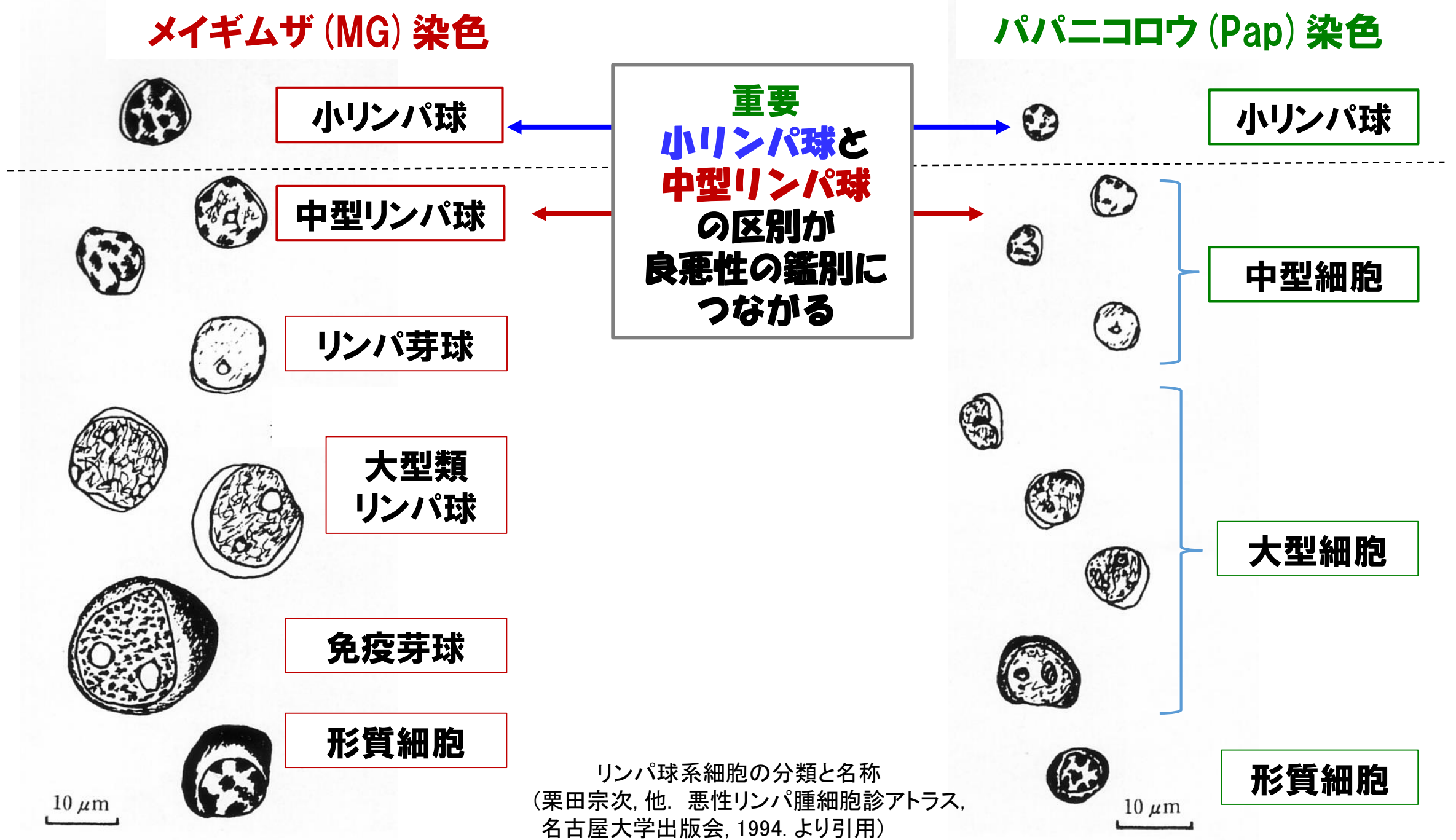
その基本は、

- ・細胞を、油浸にて、総合倍率1000倍で観察します。
- ・リンパ球系細胞を、通常500ないし1000個カウントし、各構成細胞の出現率を求めます。

※この方法は、

メイ・ギムザ染色とパパニコロウ染色のいずれでも、良悪性の鑑別に利用できます。

リンパ球系細胞の分類と要点 [一部改変]



細胞分類に適する.

核形・核小体所見の
3次元観察に適する.

図は、栗田によるリンパ節構成細胞の分類を一部改変したものです。

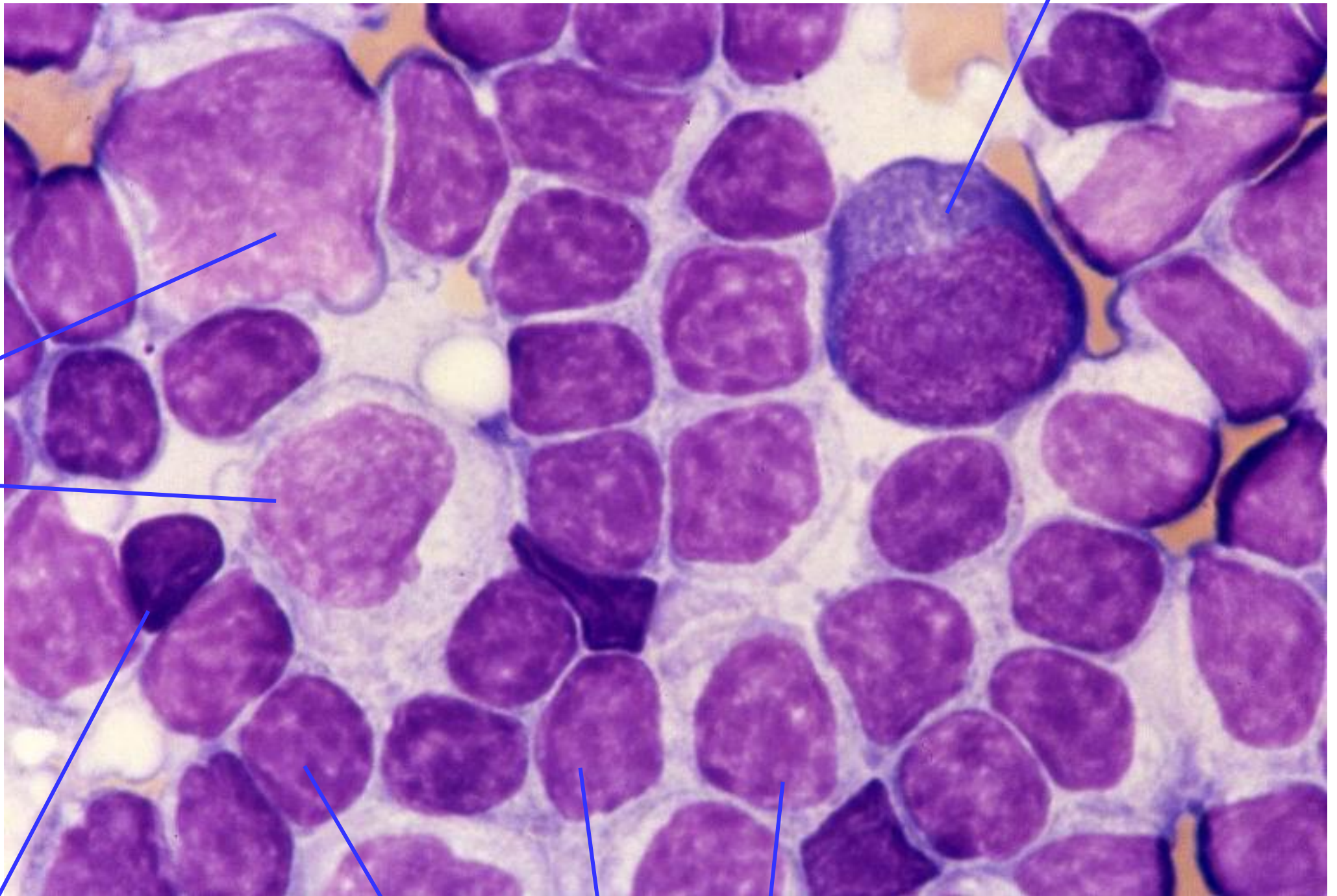
左：メイ・ギムザ染色、右：パパニコロウ染色です。
メイ・ギムザ染色では、核の長径、細胞質染色性、クロマチン所見などから、小リンパ球・中型リンパ球・リンパ芽球・大型類リンパ球・免疫芽球・形質細胞などに分類されています。

一方、パパニコロウ染色では、私は小リンパ球・中型細胞・大型細胞・形質細胞、など4種類の分類が限度と考えています。
ここでは、個々の細胞像の説明は割愛させていただきますが、いずれにおいても最も重要な点は、小リンパ球と中型細胞の鑑別にあります。
その鑑別がリンパ球系病変の良悪性の鑑別のためのキーポイントであると言えます。

非特異性リンパ節炎

免疫芽球

× 100



大型類リンパ球

小リンパ球が主体を成し、良性病変と理解できる

小型核濃染細胞

そこで、メイ・ギムザ染色による「非特異性リンパ節炎」の細胞像を示します。

右上に、免疫芽球、左上とその下に2個の大型類リンパ球が見られますが、多くは小リンパ球が占めていることが分かります。

なお、左下に見られる、濃染した小型核の細胞は、アポトーシスの細胞と考えられ、小リンパ球に分類しています。

血管免疫芽球型T細胞リンパ腫

AITL

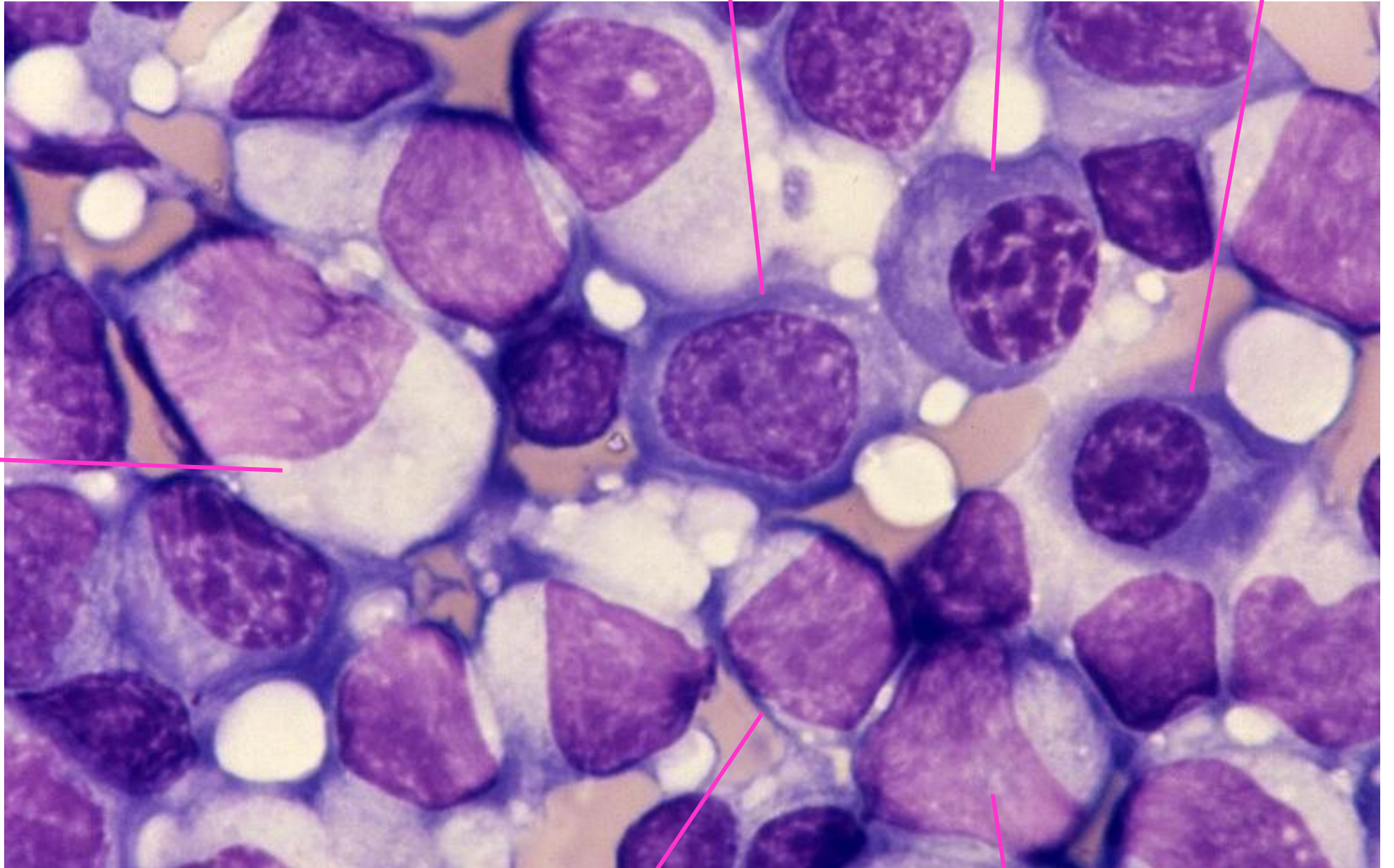
× 100

免疫芽球

形質細胞

類形質細胞

明細胞



中型リンパ球

大型類リンパ球

MG染色：明細胞や形質細胞などを混じえた多種多様な細胞像→AITLを示唆.
Pap染色：明細胞などの同定は困難.

次に、血管免疫芽球型T細胞リンパ腫を示します。

全体的には小リンパ球はほとんど見られず、中型リンパ球、大型類リンパ球免疫芽球、形質細胞、さらには明細胞などを交え、構成細胞に多彩性がみられることから、本病変が考えられます。

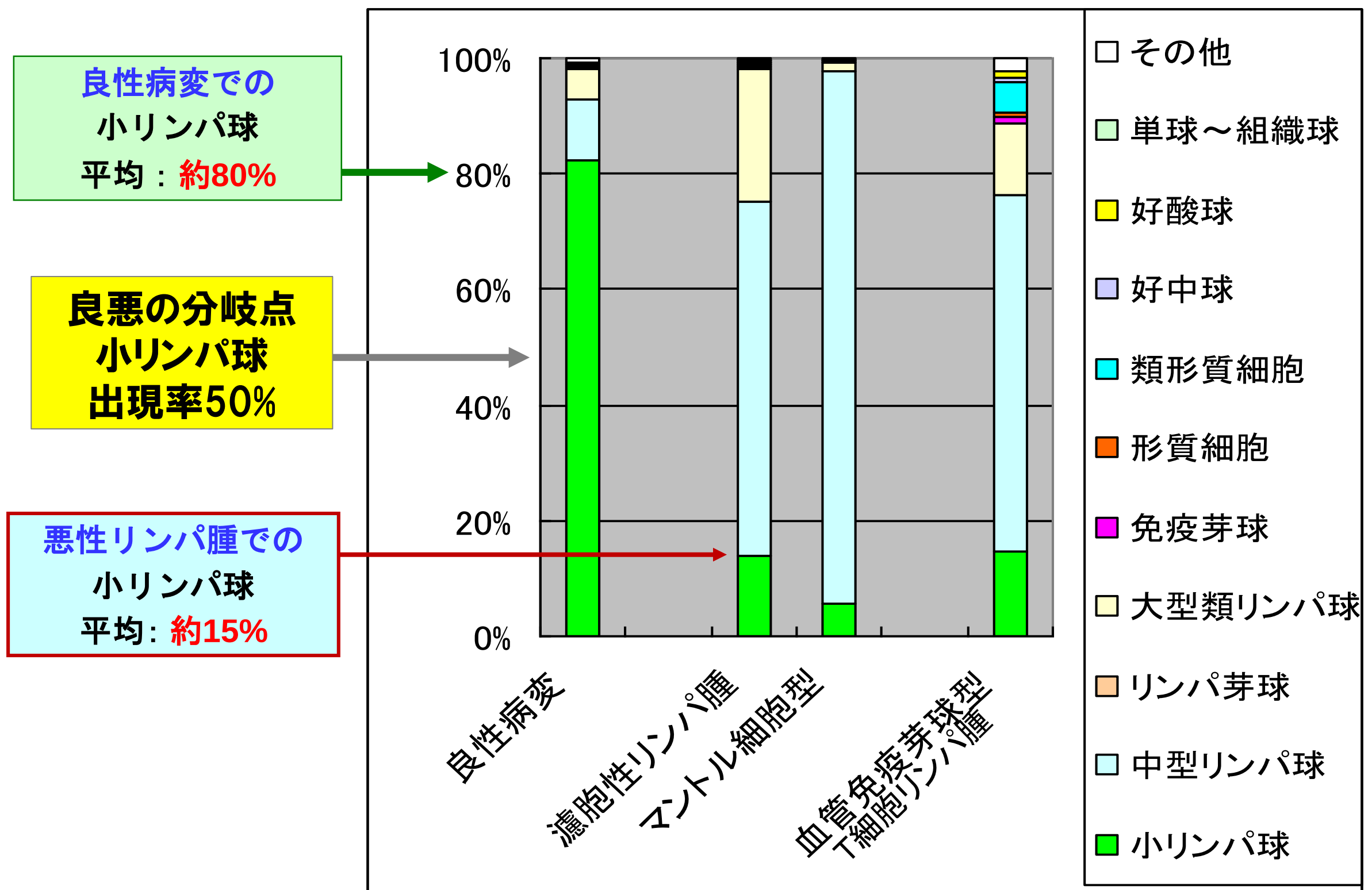
なお、明細胞の観察はメイ・ギムザ染色では可能ですが、パパニコロウ染色では困難です。

このように、細胞構成を観察しやすい点が、メイ・ギムザ染色のすばらしさであると理解しています。

そこで、メイ・ギムザ染色でのリンフアデノグラムを示します。

[MG染色] 良性病変と主な悪性リンパ腫の平均リンフォアデノグラム: 栗田・蒲ら

カウント: 500~1000個



これは、メイ・ギムザ染色での、良性病変と主な悪性リンパ腫の平均リンフォアデノグラムです。
 緑色は小リンパ球の出現率を示します。

左端の良性病変では、小リンパ球が主体で、平均約80%を占めています。
 これに対し、濾胞性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、および右端の血管免疫芽球型T細胞リンパ腫では、小リンパ球が15%程度であることを示しています。

一般に、良性病変では、小リンパ球が50%以上、他方、悪性リンパ腫では、小リンパ球以外の細胞が主体を成していることが分かります。

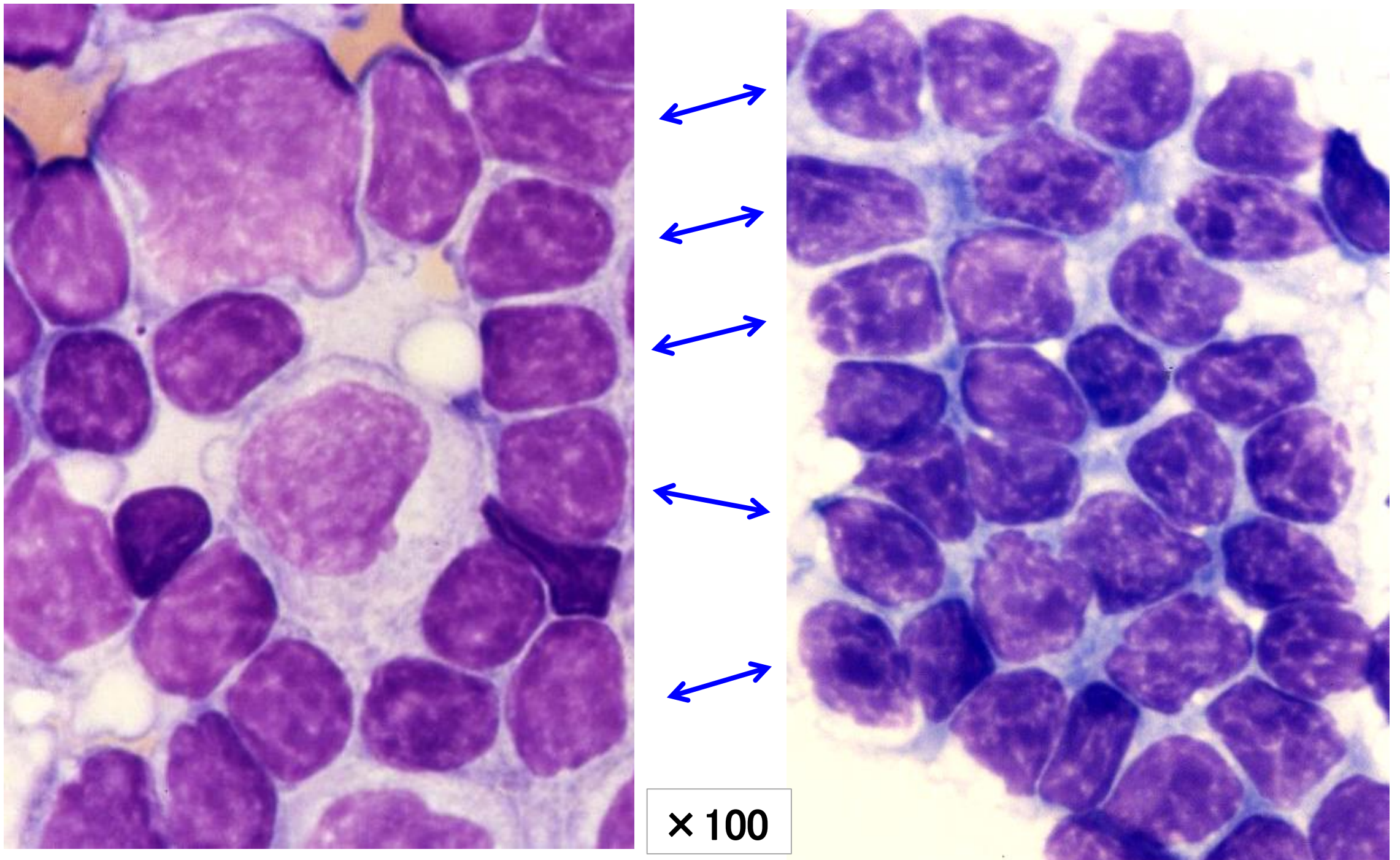
この点が、良性病変と悪性リンパ腫の、基本的かつ重要な鑑別点といえます。

MG染色の難しさ

MG染色では、小リンパ球か否かの鑑別がやや難しい

非特異性リンパ節炎

小細胞型リンパ腫



しかしながら、メイ・ギムザ染色でリンフアデノグラムを求める際、小リンパ球と中型細胞の鑑別が難しい症例に遭遇します。

左は、良性病変での小リンパ球、右は、小細胞型リンパ腫での小型腫瘍細胞です。

右は、熟練者には鑑別可能と思われますが、一般的には非常に鑑別が難しい細胞と考えます。

仮に、左スライドでの小型細胞を中型リンパ球に分類すると悪性リンパ腫、他方、右スライドでの細胞を小リンパ球と理解すれば良性病変に、それぞれ誤った診断をする恐れがあります。

すなわち、メイ・ギムザ染色では、構成細胞の理解には適していますが、一般に良悪性、特に小型～中型細胞から成る病変での鑑別に迷う難しさがあると言えます。

パパニコロウ染色での着眼点

[利点]

細胞像の立体的観察が可能.



核形と核小体の所見に注目



★小リンパ球と中型細胞の鑑別がし易い.



良悪性の鑑別に適する.



甲状腺MALTリンパ腫などの低悪性度腫瘍の診断に有用

重要:小リンパ球と中型細胞の鑑別点を明確にすること.

これに対し、パパニコロウ染色では、細胞像の立体的観察が可能であり、



核形と核小体の所見に注目することで、



小リンパ球と中型細胞の鑑別がし易いと言えます。

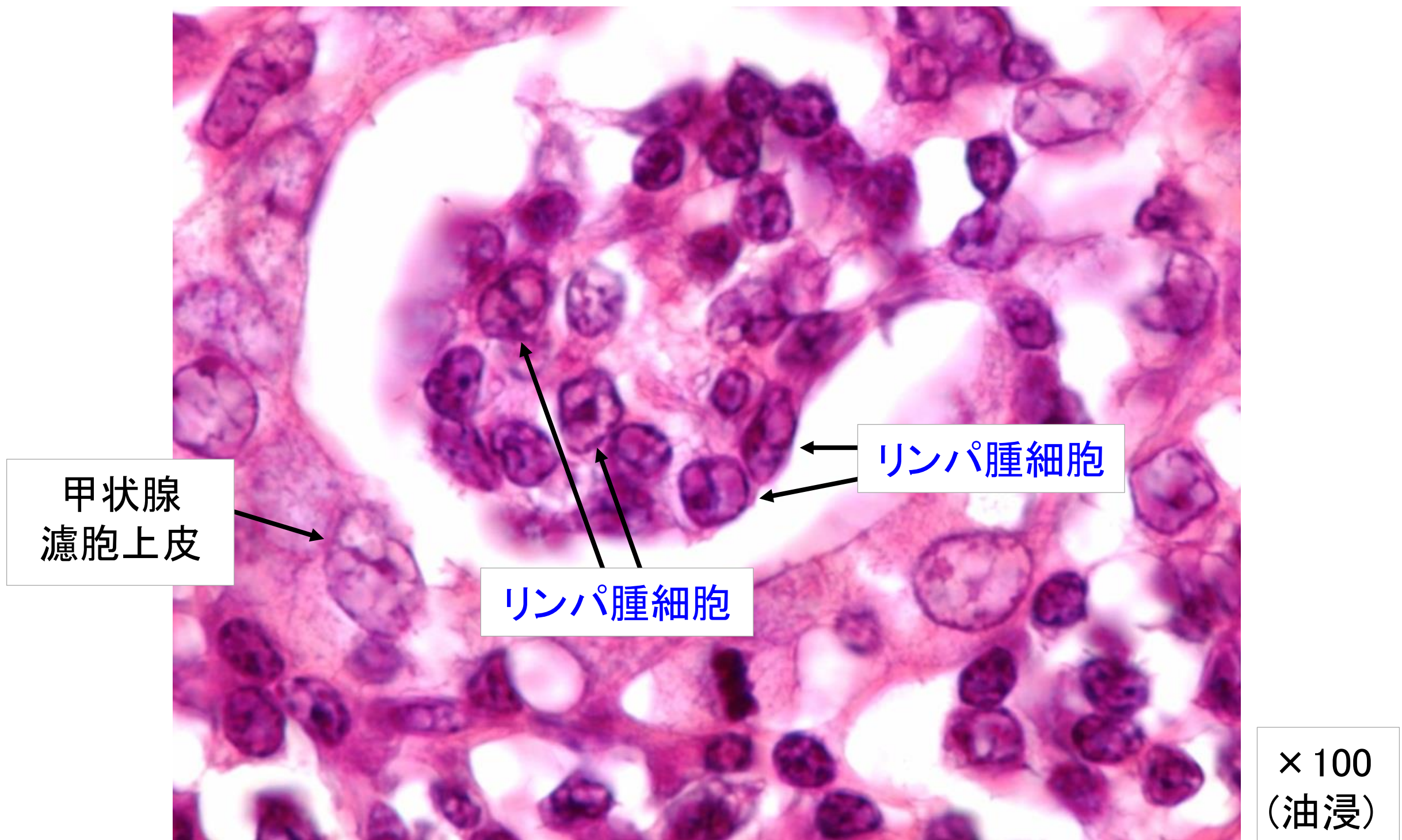


このことが、良悪性の鑑別に適しており、ひいては、甲状腺MALTリンパ腫などの低悪性度のリンパ腫の診断に有用と考えます。

そのためには、小リンパ球と中型細胞の鑑別基準を明確にする必要があります。

組織MALT ball内部に存在するリンパ腫細胞の核所見

甲状腺



核形と核小体にヒントがある？

そこで、私達は、甲状腺MALTリンパ腫の組織標本(HE染色)に見られる、いわゆるMALT ball内部の核所見に注目しました。

内部を油浸で観察しますと、
小型～中型の細胞ながら、核小体の長径が核長径の1/4以上、
すなわち、
[核小体/核]-比 が1/4以上で、不整形の核を持つ腫瘍細胞を観察することができました。

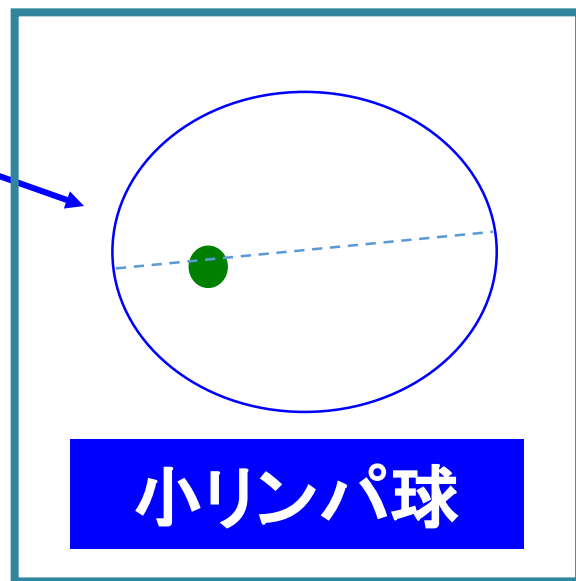
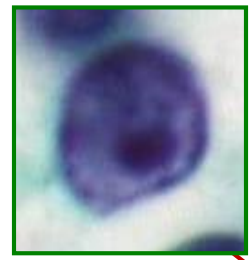
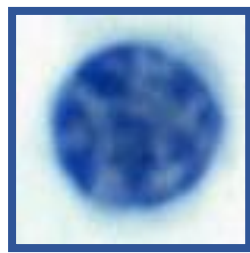
そのことから、小リンパ球とリンパ腫細胞の鑑別点は、核形と核小体の関係にヒントがあるものと考えました。

甲状腺 穿刺

[Pap染色]

核と核小体の関係に基づく分類

Benign
lesion



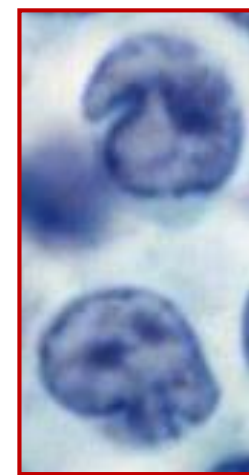
小リンパ球

特に

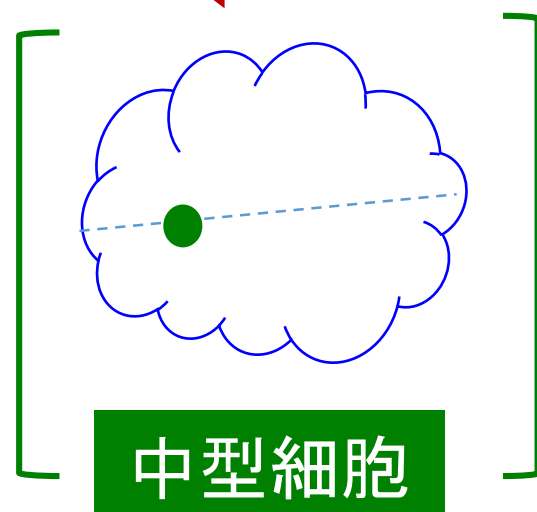
小リンパ球の定義

- ①核形：類円形・円滑
核長径：約4 μ m
- ②核小体：クロマチンが粗剛のため目立たない
[核小体/核]比 < 1/4

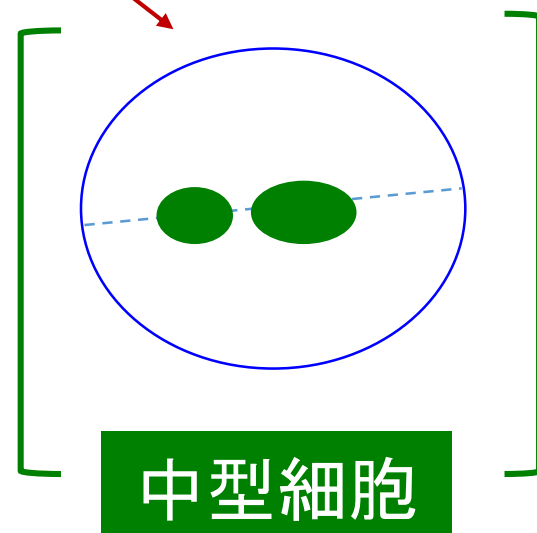
Fol.
lymphoma



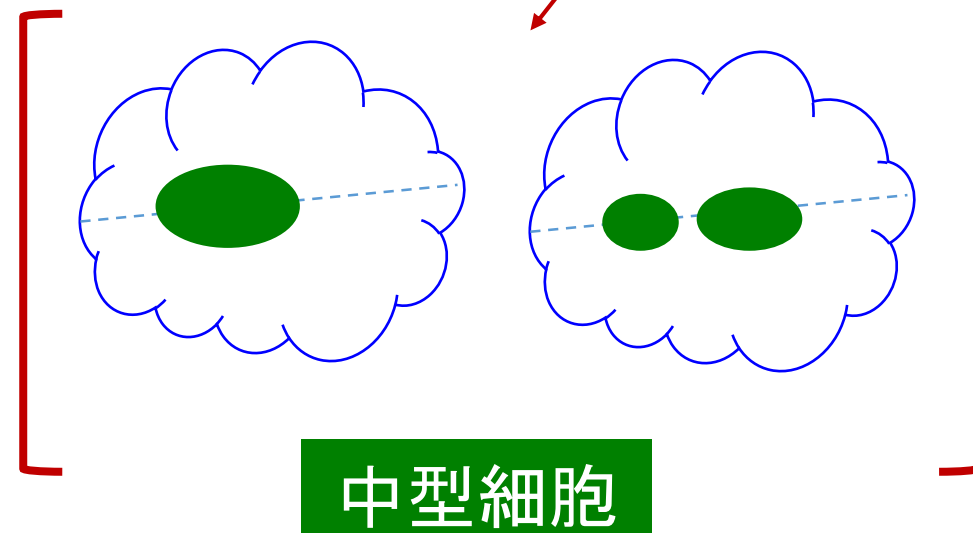
良悪の判断のためには
核が小リンパ球の大きさでも、①または②を満たさない場合 → 中型細胞とする。



中型細胞



中型細胞



中型細胞

ISN-PN細胞

“ISN-PN” : irregularly shaped nucleus with prominent nucleolus

【上図で、青色輪郭は核形、その内部の緑色は核小体を示す】

そのヒントから、パパニコロウ染色での、「核形」と [核小体/核]-比 に注目し、「核と核小体の関係に基づく分類」を設けました。

- 小リンパ球は、一般に核の長径約4ミクロン、小型類円形で、不整が見られず、クロマチンが粗剛で核小体は目立ちません。そこで、[核小体/核]-比が1/4未満の小型細胞と定義しました。
- これに対して、[核小体/核]-比が1/4以上を示す場合の核小体を、「目立つ核小体」ととらえ、核小体が複数個の場合は、「それぞれの核小体の長径の和」をもってその細胞の核小体とみなすことにしました。

これにより、良悪性の鑑別のためには、核が小リンパ球の大きさであっても

- 下段での左：核形不整が見られる場合、
- 中央：核形不整がなくても、核小体が目立つ場合、
- 右での2つ：核形不整があり、かつ目立つ核小体を持つ場合、
などでは、いずれも中型細胞としました。

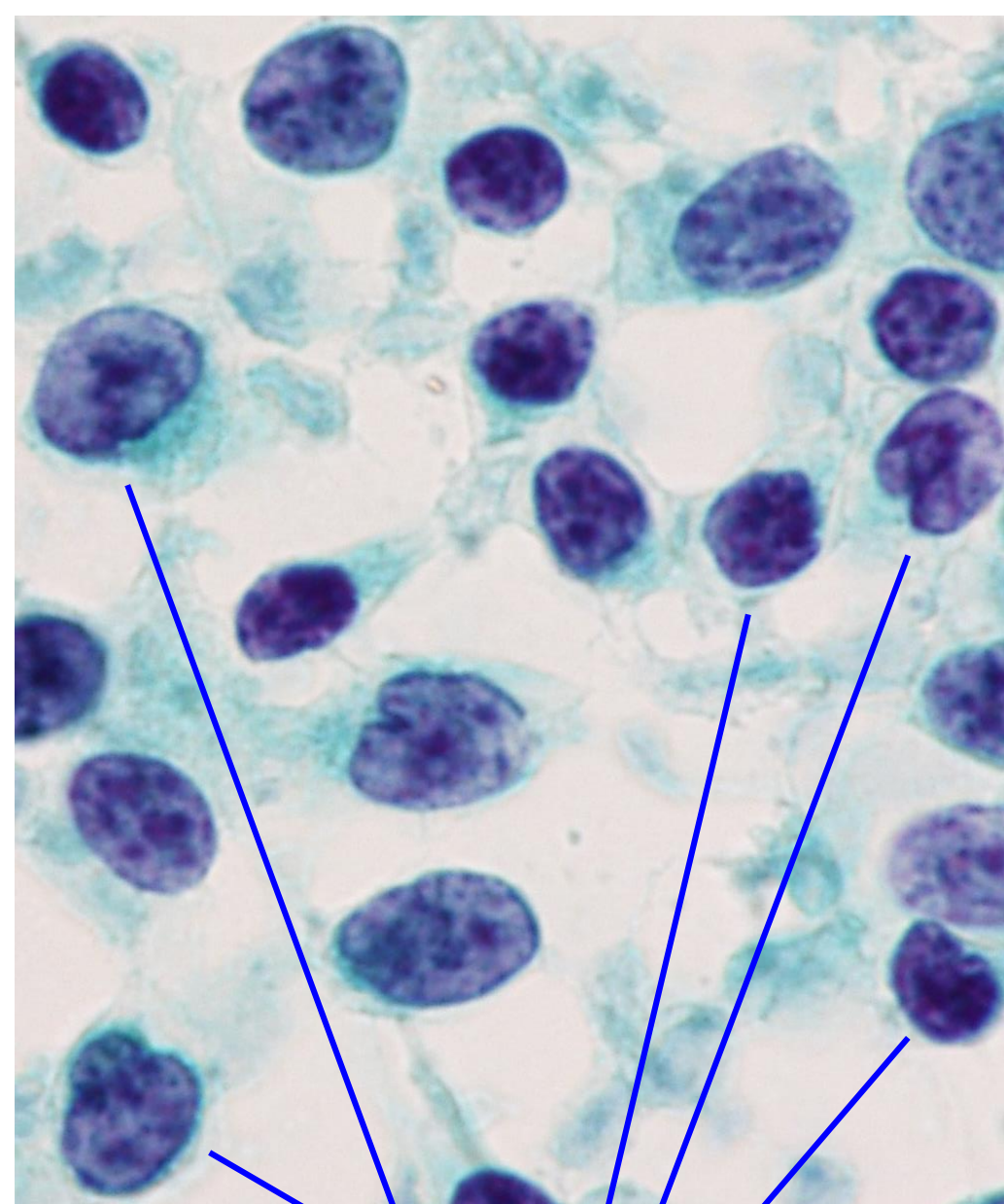
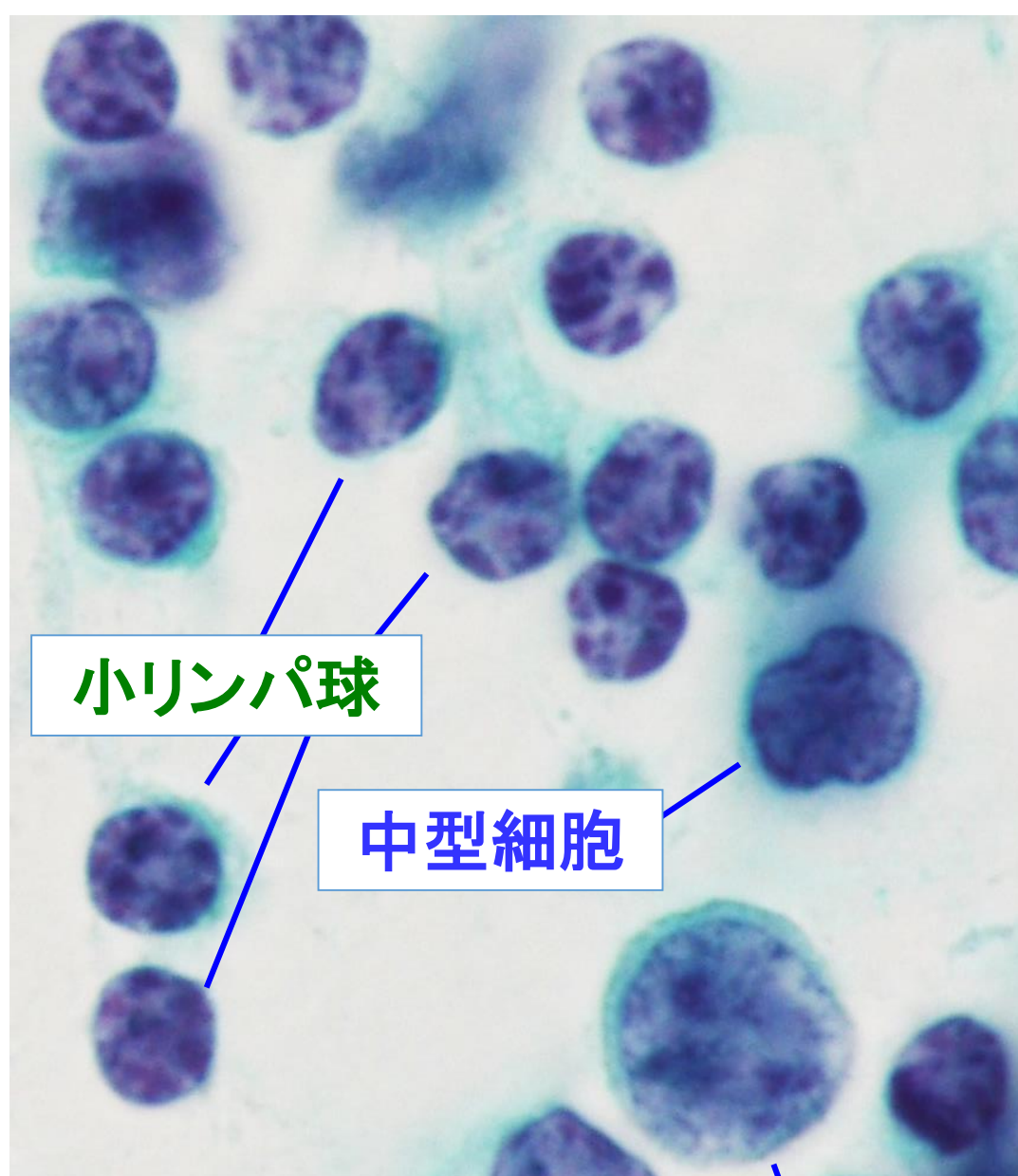
★なお、ISN-PN細胞とは、この irregularly shaped nucleus with prominent nucleolus [ISN-PN]の所見を示す細胞を意味します。

甲状腺 穿刺

橋本病

× 100

MALTリンパ腫



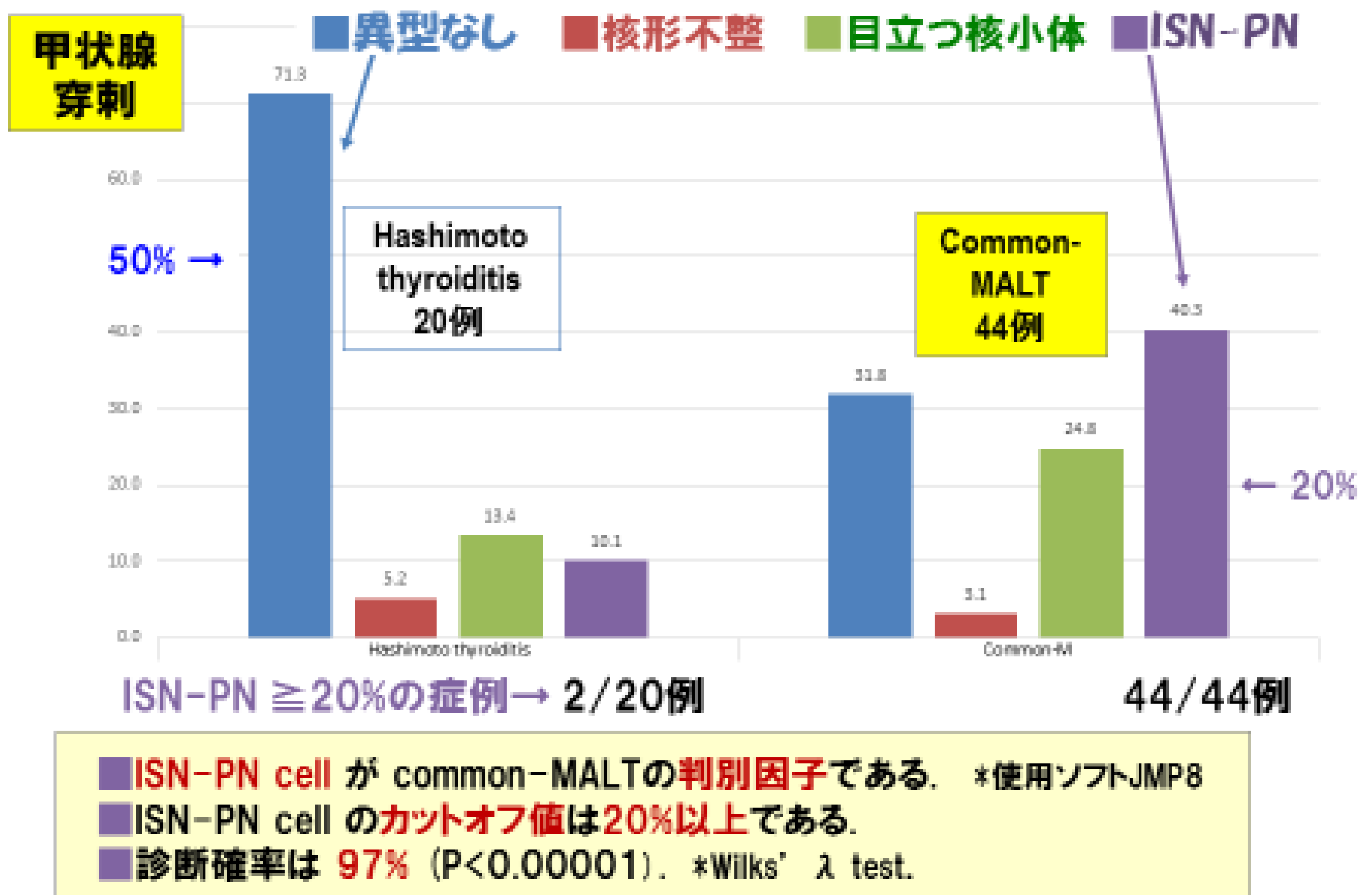
Pap染色では、核形と核小体により
小リンパ球と中型細胞 (ISN-PN細胞) に区分できる

これは、甲状腺の穿刺細胞像です。

甲状腺については、後半で詳しく解説しますが、ここでは「核と核小体の関係による分類」のメリットを示します。

左は橋本病ですが、小リンパ球、中型細胞、そして大型細胞が区別できます。右はMALTリンパ腫です。小型～中型の細胞でありながら、いわゆるISN-PN細胞の認識が可能です。

「核形と核小体の関係」による4タイプの出現率 [平均]



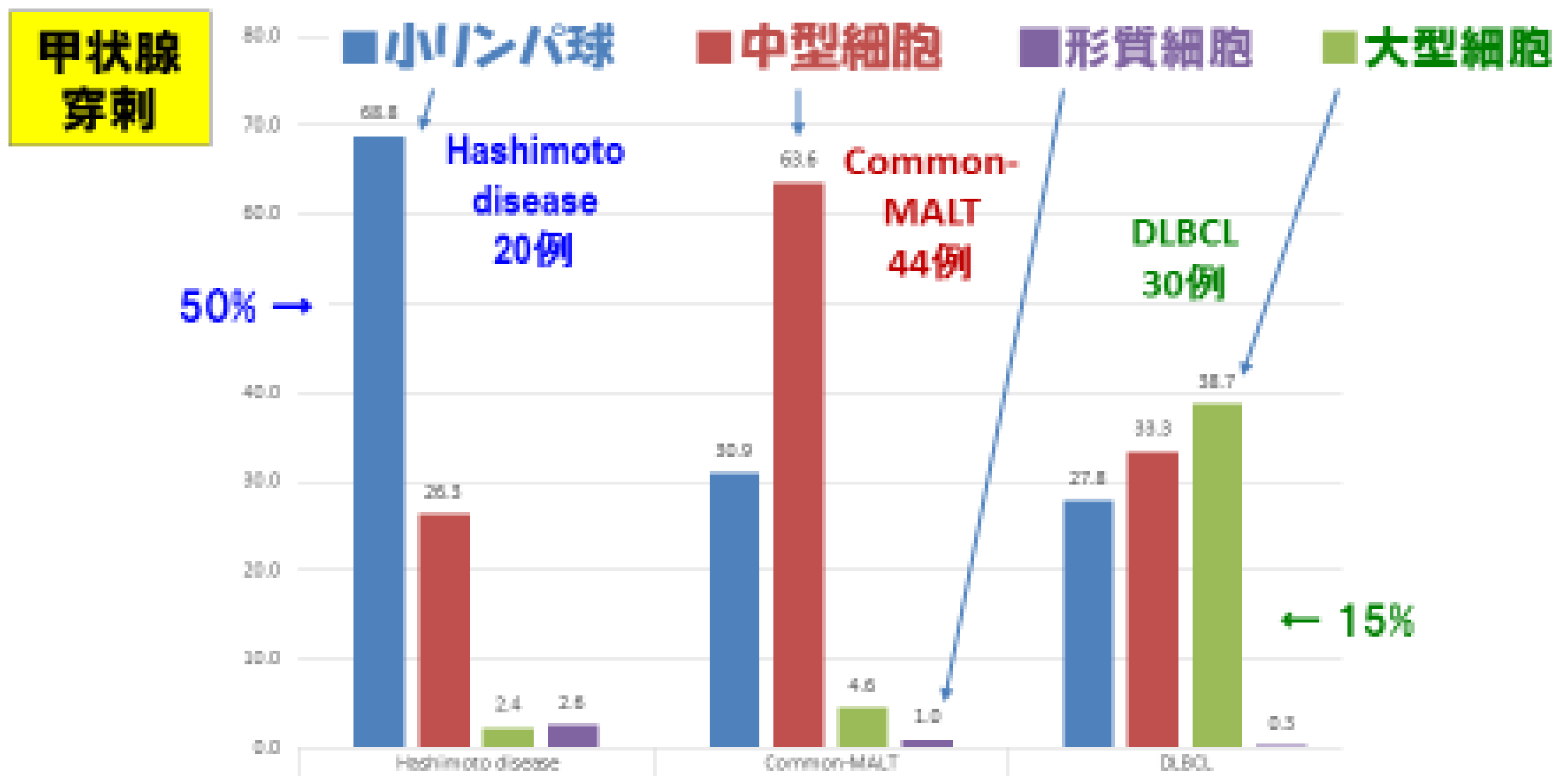
これは、「核形と核小体の関係」による4つのタイプの平均出現率を、甲状腺の橋本病20例とCommon-MALTリンパ腫44例について検討しました。Common-MALTリンパ腫とは、普通に見られるMALTリンパ腫を意味し、ここには、顕著に形質細胞への分化を示すMALTリンパ腫は含みません。

判別分析により、ISN-PN細胞が common-MALTリンパ腫の判別因子として抽出されました。

そして、ISN-PN細胞の出現率が20%以上、すなわち「5個に1個以上」の割合でISN-PN細胞が見られる場合、MALTリンパ腫である確率は97%でした。

この結果は、「核形と核小体の関係による分類」が、低悪性度の悪性リンパ腫に有効であることを示していますが、他のリンパ腫にも適用することができます。

[Pap染色] 病変別にみた4種類の構成細胞出現率 [平均]



橋本病: 小リンパ球 $\geq 50\%$ [19/20例: 95%]

Common-MALT: 小リンパ球以外の細胞 $\geq 50\%$ [38/44例: 86%]

DLBCL: 小リンパ球以外の細胞 $\geq 50\%$ [28/30例: 93%]

大型細胞 $\geq 15\%$ [27/30例: 90%]

次に、「核形と核小体の関係による分類」を踏まえ、病変別にみた構成細胞の平均出現率を示します。

ここでは、甲状腺の橋本病とCommon-MALTリンパ腫、そしてDLBCL(び慢性大細胞型リンパ腫)を加えて検討しました。

この検討で、95%の橋本病では、小リンパ球出現率が50%以上であること、約85%のCommon-MALTでは、中型細胞出現率が50%以上であること、そして、約95%のDLBCLでは、中型と大型細胞が50%以上を占め、かつ、90%のDLBCLでは大型細胞出現率が15%以上を占めること、などが分かりました。

このように、パパニコロウ染色では、小リンパ球と中型細胞を明確に区分でき、良悪性の鑑別に役立てることが出来ます。

大型細胞

中型細胞

小リンパ球

中型細胞

Pap染色では、小型細胞であっても、核形と核小体により小リンパ球と中型細胞に区分できる

そこで「核と核小体の関係による分類」の、リンパ節標本への応用例を示します。

左右は、スライド8と同じ組み合わせのパパニコロウ染色です。

左は非特異性リンパ節炎です。

左端に免疫芽球と思われる大型細胞、右端に中型細胞、その周囲は小リンパ球が占めています。

右は小細胞型リンパ腫です。

一見小リンパ球に見えますが、核形不整あるいは目立つ核小体を有する異型細胞を、定義上「中型細胞」と認識することで、悪性リンパ腫と判断できます。

なお、

小細胞型リンパ腫では、この症例の様な小リンパ球に類似した症例や必ずしも粗剛なクロマチンを示さない症例も見られます。

日常遭遇するリンパ球系病変の細胞像

良悪性の鑑別のための着眼点

- 1) **Pap染色**では、核形と核小体所見に注目.
小リンパ球と、他の細胞を鑑別.
出現率による良悪性の判断.
- 2) **MG染色**では、細胞構成に注目.
可能な組織型の推定.

これから、日常遭遇する主なリンパ球系病変の細胞像を供覧します。

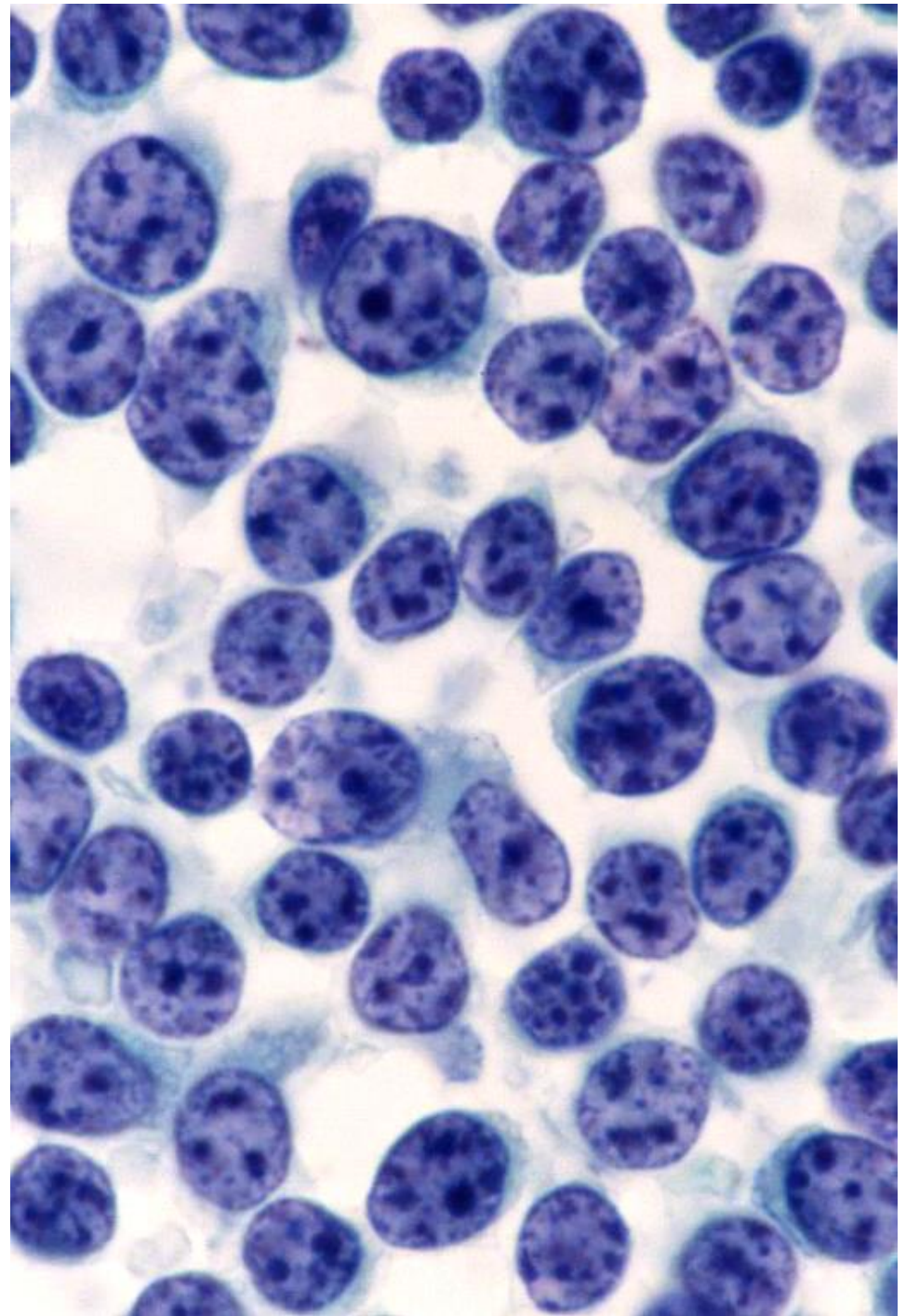
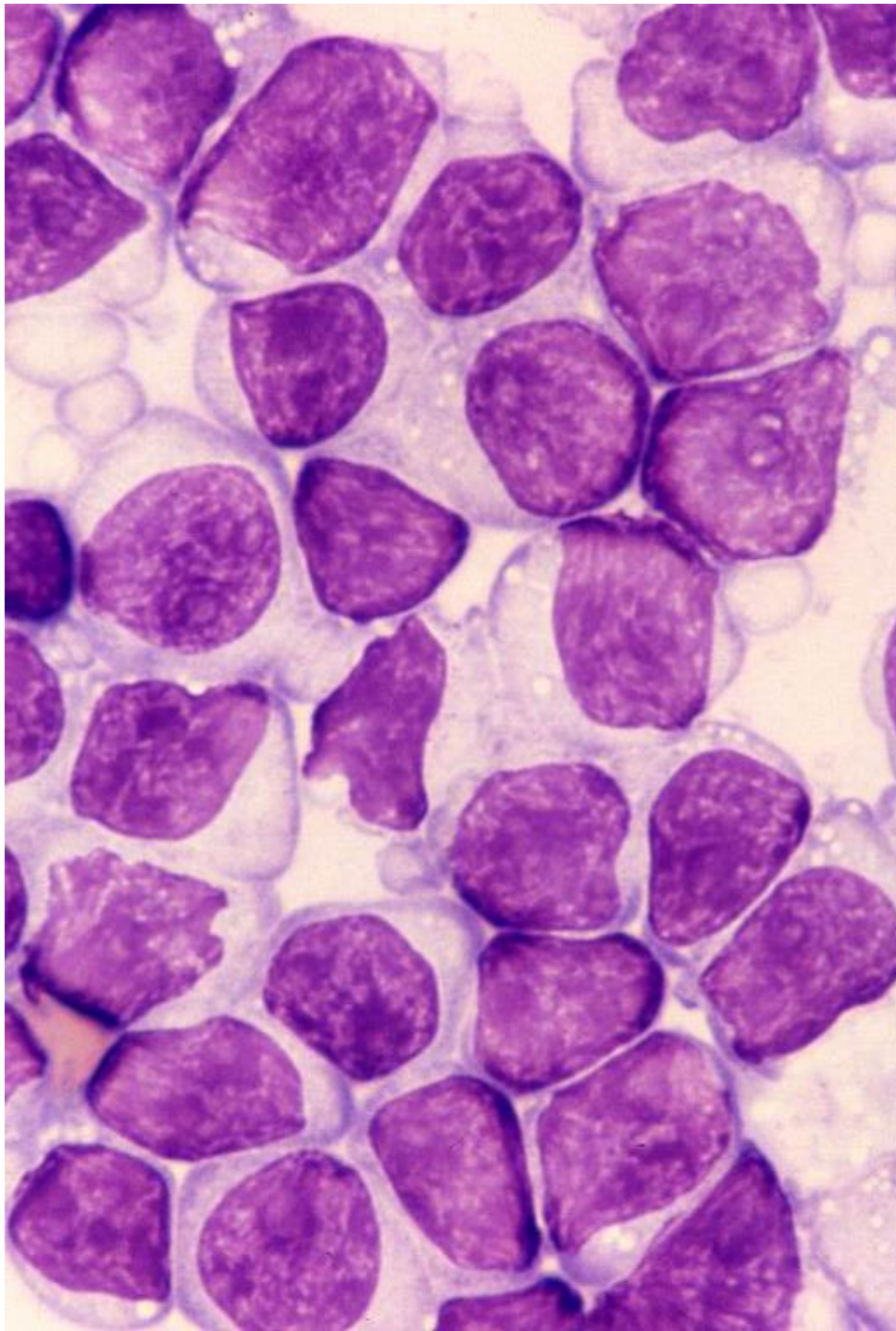
良悪性の鑑別のための着眼点は、

パパニコロウ染色では、
核形と核小体所見に注目して、小リンパ球と他の細胞を鑑別し、
その出現率から良悪性の判断を行います。

また、メイ・ギムザ染色では、
細胞構成に注目し、可能な組織型を推定する手順になります。

マントル細胞リンパ腫

× 100



中型細胞が主体で、核形不整は見られないが、核小体に注目。
Pap染色：複数の**核小体長径の和**が核長径の1/4以上→悪性と判断可能。

マントル細胞リンパ腫です。

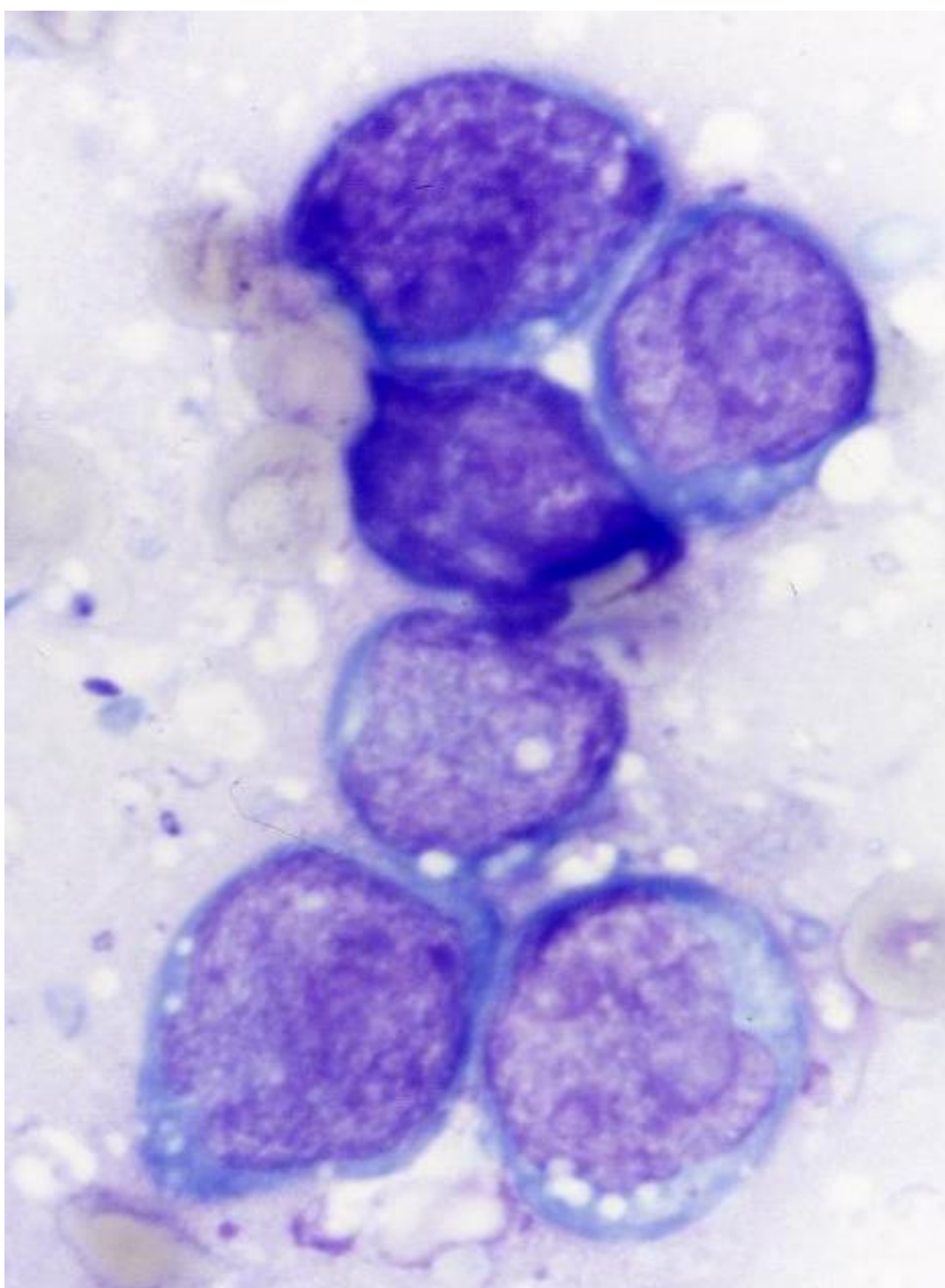
パパニコロウ染色では、
ほぼ類円形で、核形不整は見られませんが、複数の核小体の長径
の和から、小リンパ球ではなく、目立つ核小体を有する腫瘍細胞と理
解できます。

メイ・ギムザ染色でも、
全体に中型リンパ球で占められ、単調な細胞像を示します。

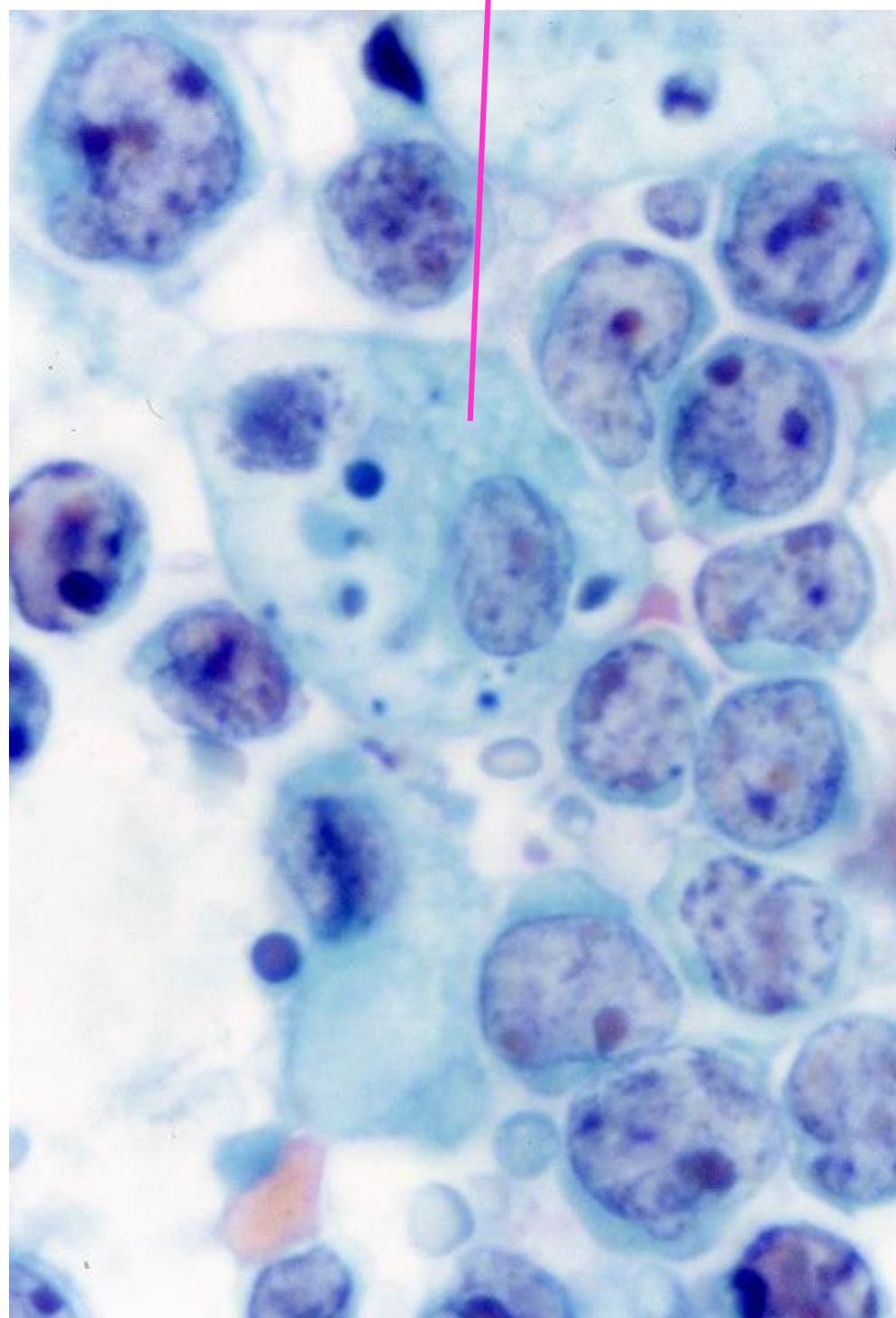
これらの所見から、マントル細胞リンパ腫と判断できます。

バーキットリンパ腫

× 100



貪食細胞 [starry sky pattern]



やや小型の大型類リンパ球が主体.

Pap染色: 核形・核小体所見→悪性と判断可能. **貪食細胞**の観察容易.

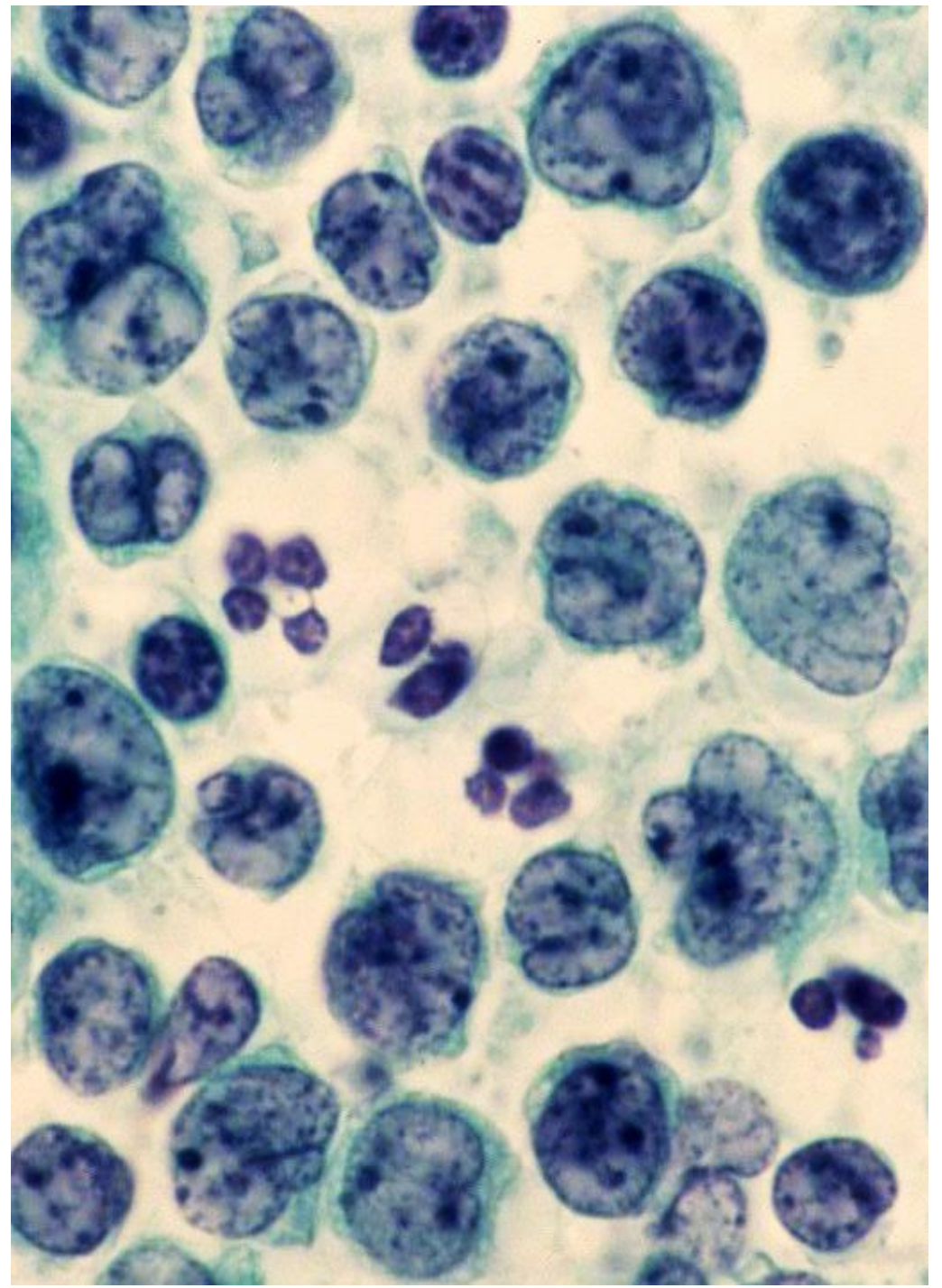
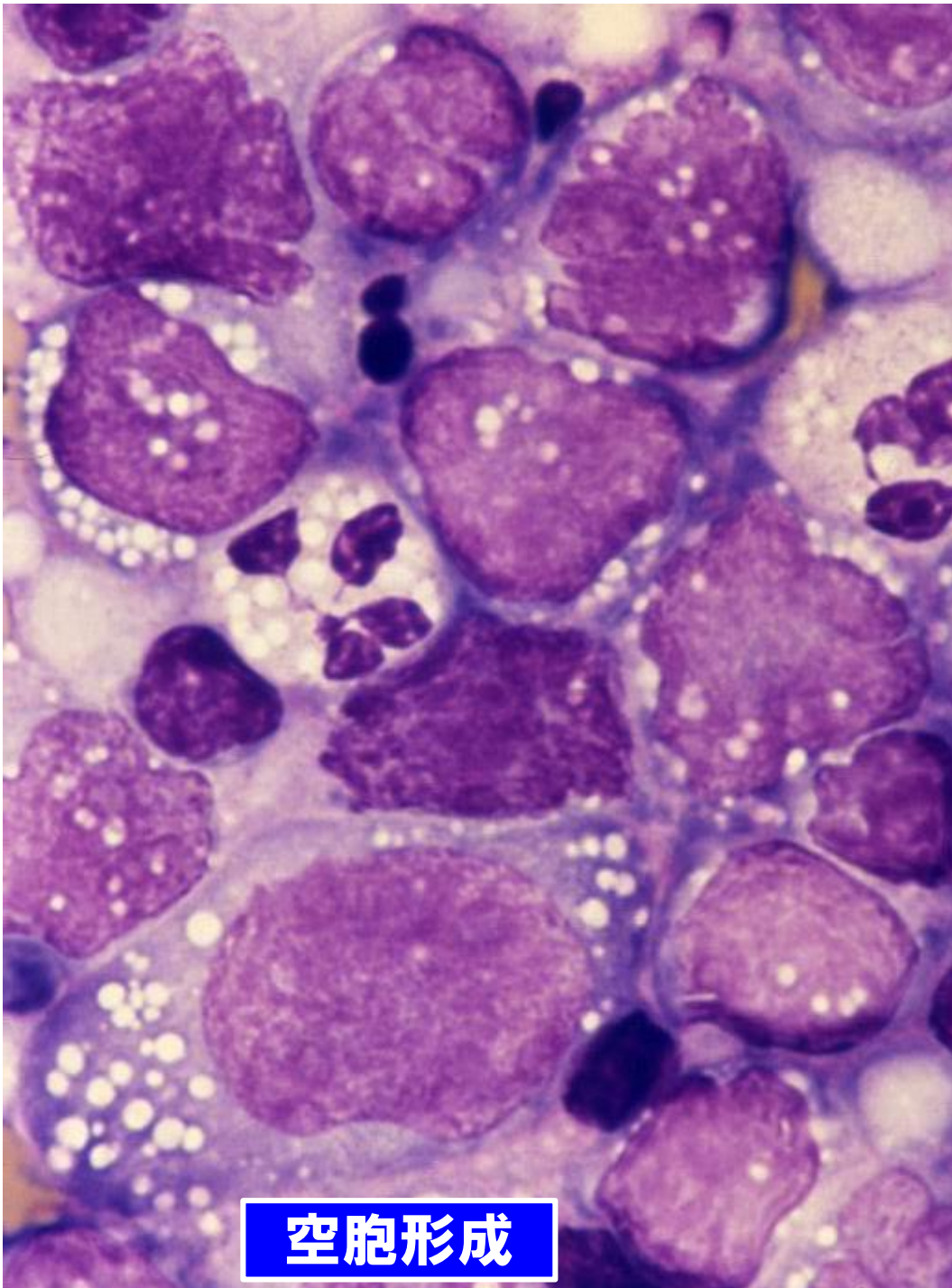
バーキットリンパ腫です。

パパニコロウ染色での、
中央に壊死物質を貪食したmacrophageが見られ、いわゆるstarry sky patternを反映しています。
その周りはほとんどが中型～大型の細胞で、核形不整と目立つ核小体を観察できます。

メイ・ギムザ染色で、
これらはやや小型の大型類リンパ球であり、小リンパ球は見られず、
バーキットリンパ腫の診断が可能です。

びまん性大細胞型Bリンパ腫

× 100



核形不整の著しい大型類リンパ球が主体。MG染色では空胞形成が見られる。
大型細胞が15%以上の場合→びまん性大細胞型Bリンパ腫。

びまん性大細胞型Bリンパ腫です。

このタイプの細胞像は、症例により多様性が見られます。

この症例のパパニコロウ染色では、
いずれも核形不整を示し、目立つ核小体を有する細胞が観察されます。

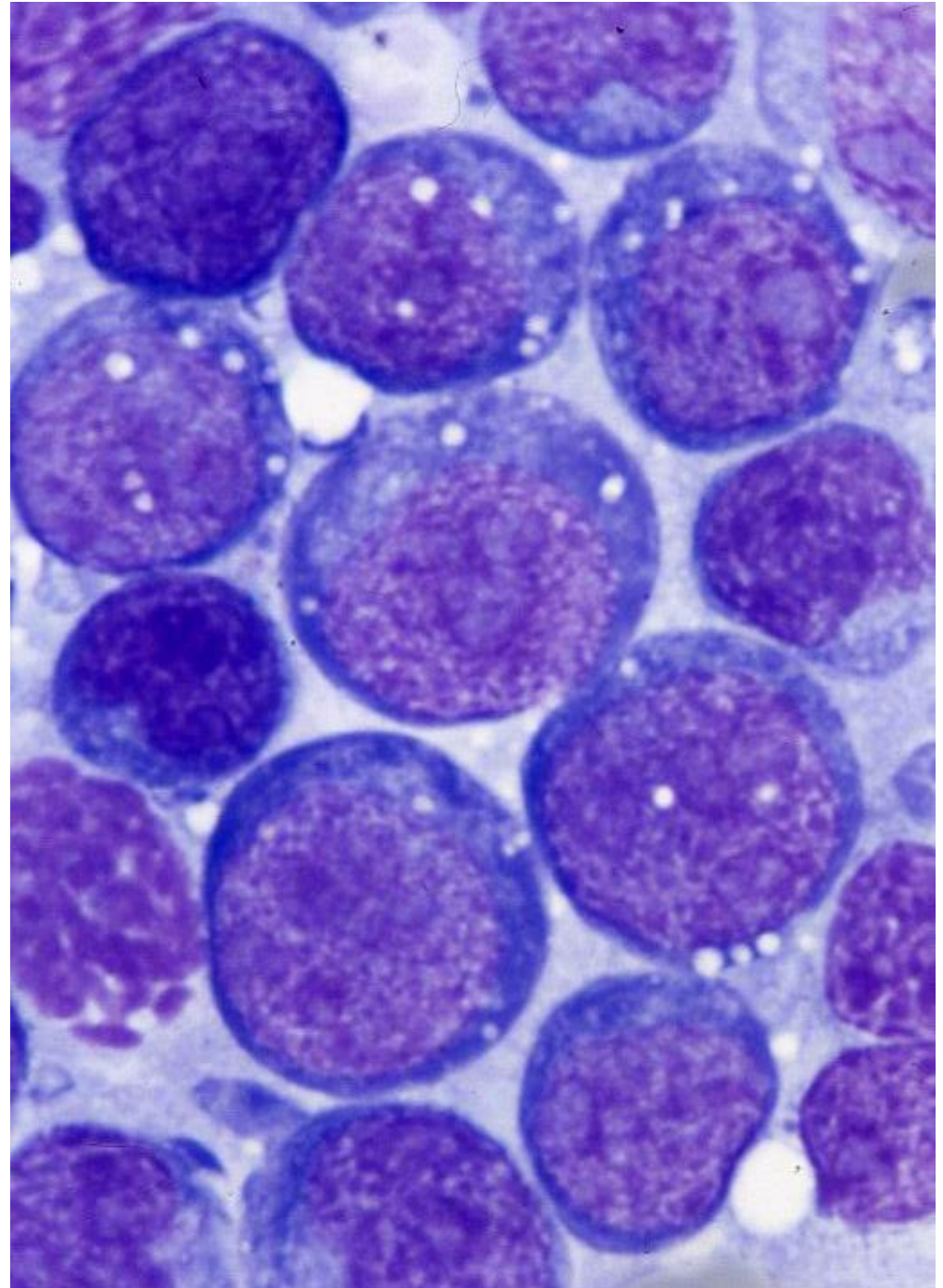
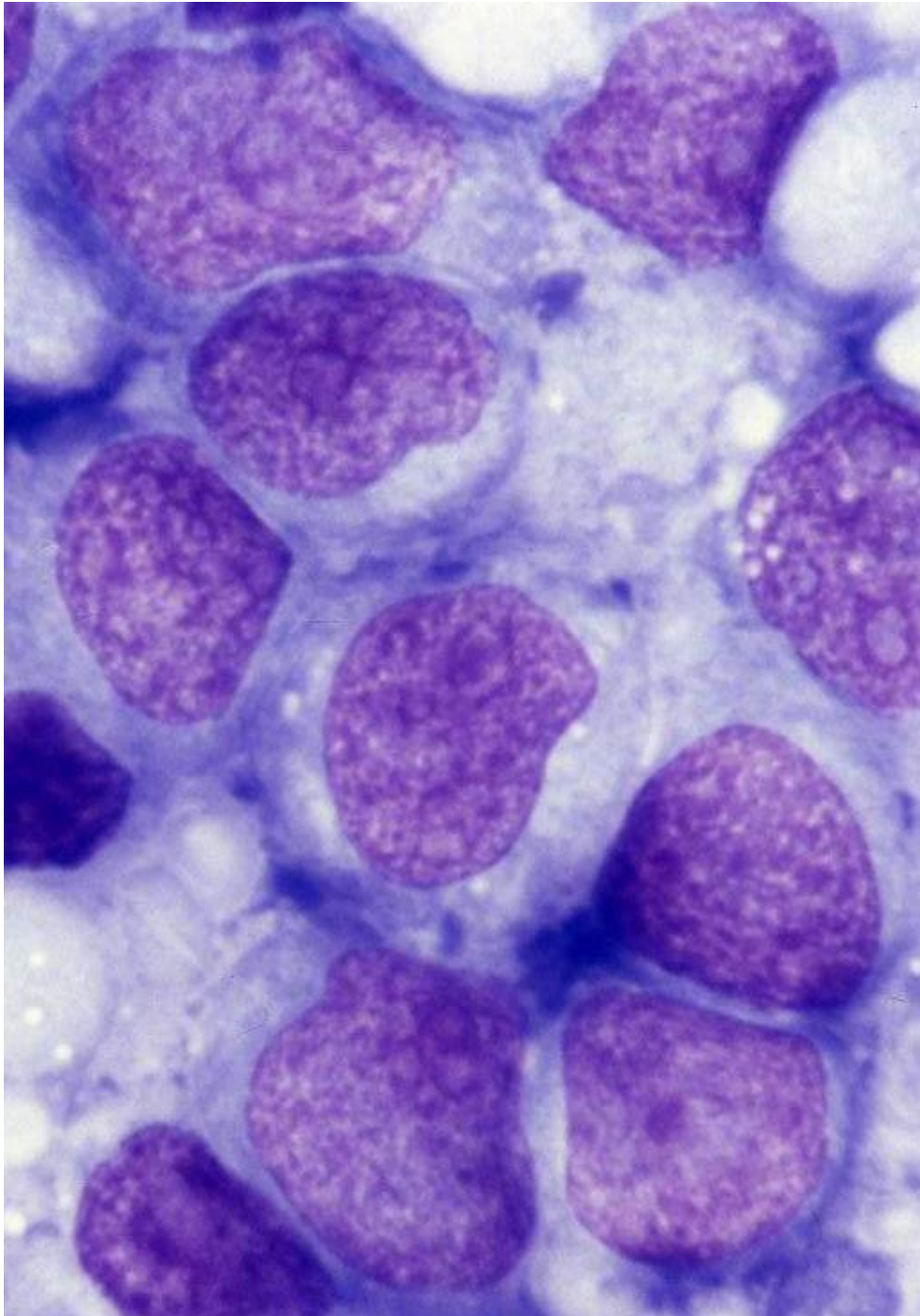
メイ・ギムザ染色では、
全体に、細胞質に空胞を有する大型類リンパ球で占められています。

びまん性大細胞型Bリンパ腫

× 100

大型類リンパ球が主体

免疫芽球が主体



大型の細胞が主体. **MG染色**では**大型類リンパ球**と**免疫芽球**の鑑別が可能.
免疫染色など→**GCB / non-GCB**の鑑別検索を行う.

左右とも、別々の症例でのびまん性大細胞型Bリンパ腫です。

また、直前に示した症例とは別症例です。

左右とも、大型の細胞で占められ、悪性リンパ腫の診断は容易ですが、
左は、大型類リンパ球で占められる症例、右は、免疫芽球で占められる
症例です。

なお、このタイプでは、予後と治療法を判断する上で、胚中心様のGCB型と
非胚中心様のnon-GCB型との鑑別所見を明らかにすることが期待されて
います。

.....

【メモ】

免疫染色でGerminal center-like(GCB) 型とnon-GCB型に区分する。

[WHO 2008] 両者は、予後と治療法が異なる。

GCB型 : CD10+/BCL6+・MUM1- 【予後が良い】

non-GCB型: MUM1+ 【予後が悪い】

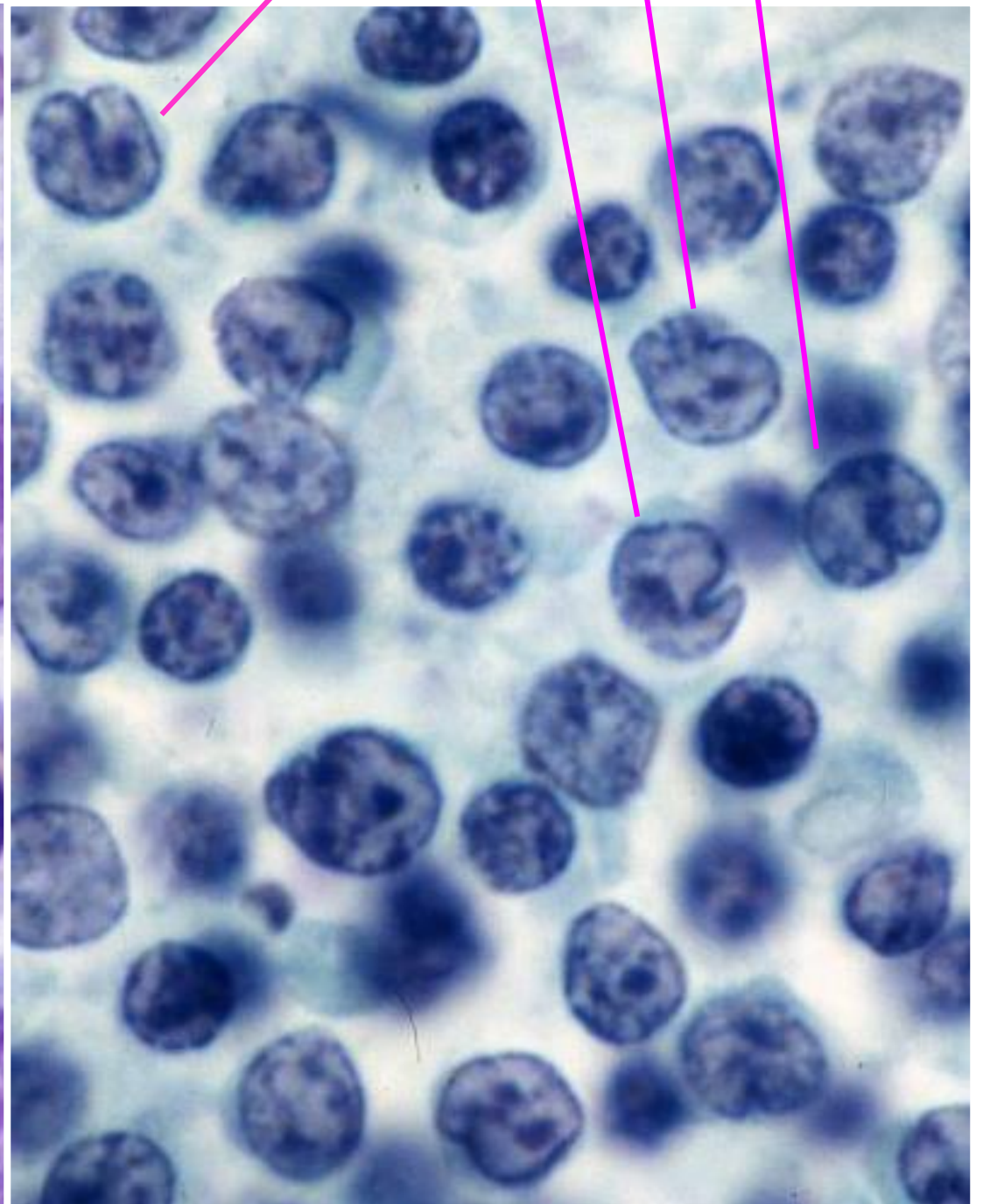
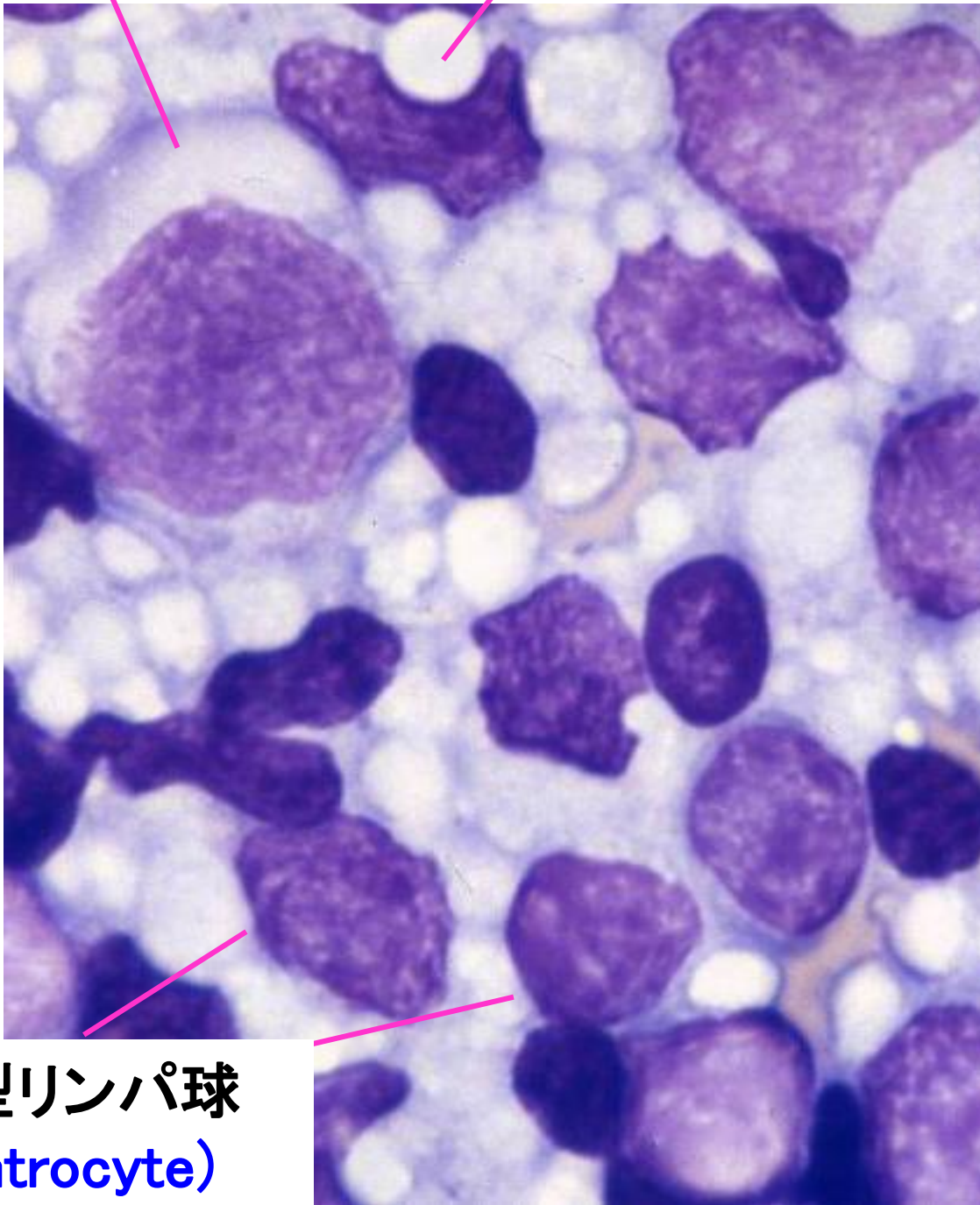
濾胞性リンパ腫

× 100

大型類リンパ球
(centroblast)

Russell body

中型細胞 (centrocyte)



中型リンパ球
(centrocyte)

Pap染色：核形不整の著しい中型細胞が主体. 核・核小体所見→悪性と判断可能.

■ **濾胞性/び慢性の鑑別は、濾胞構造**を反映する所見 が望まれる.

濾胞性リンパ腫です。

パパニコロウ染色での多くは、核形不整と目立つ核小体を有する中型細胞、いわゆるISN-PN細胞であり、悪性リンパ腫と考えられます。

一方、メイ・ギムザ染色では、小リンパ球と中型細胞の鑑別が必ずしも容易ではありません。

このように、パパニコロウ染色は、小型ないし中型のISN-PN細胞を認識することで、悪性リンパ腫の診断に大いに役立つものといえます。

.....
【参考】積乱雲様構造：

中型細胞を主とする症例での捺印パパニコロウ染色標本では、組織標本での濾胞構造を反映した細胞集塊を低倍率で観察することがある。

なお、同様の積乱雲様構造は、反応性濾胞過形成でも見られる。

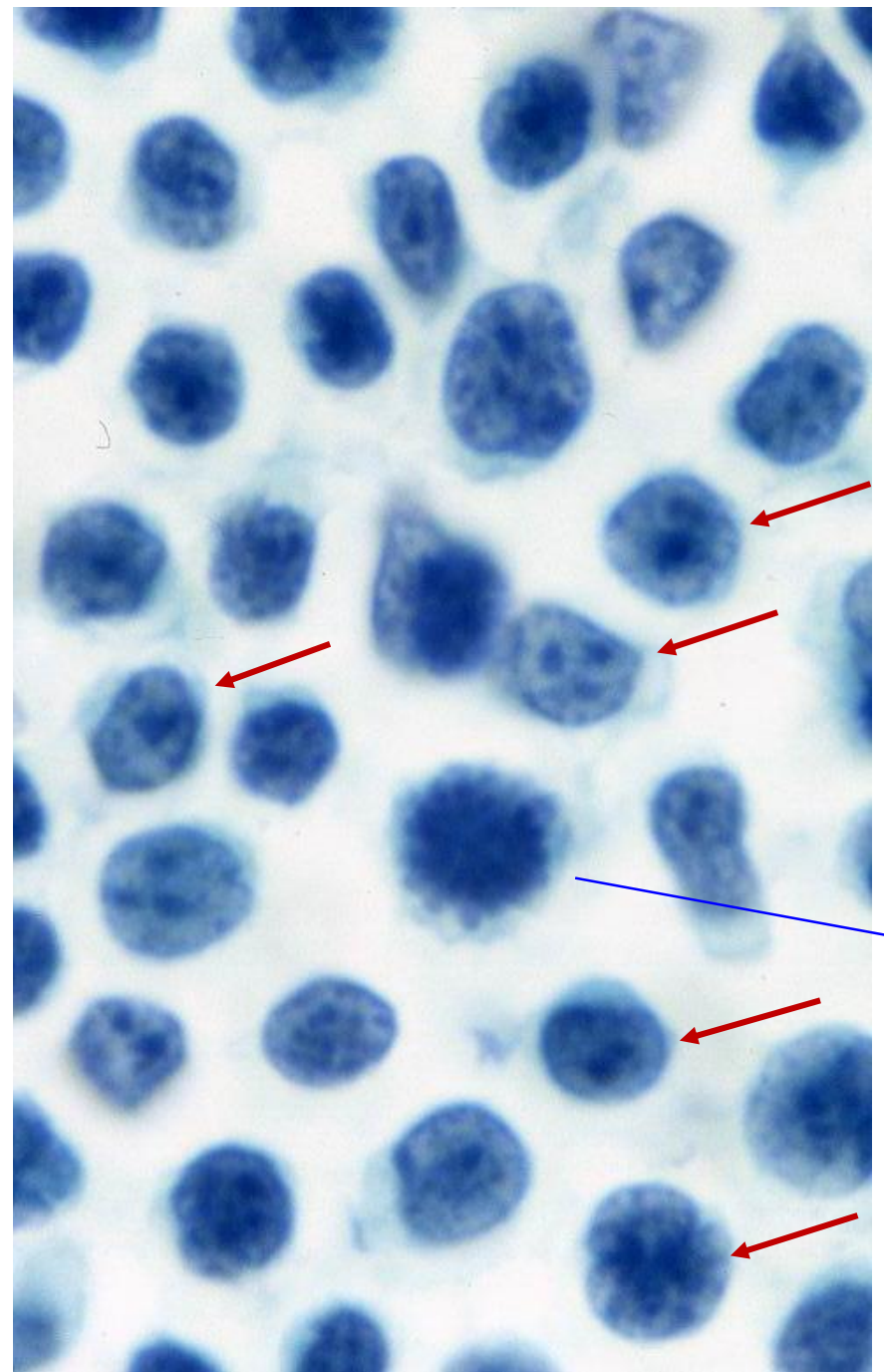
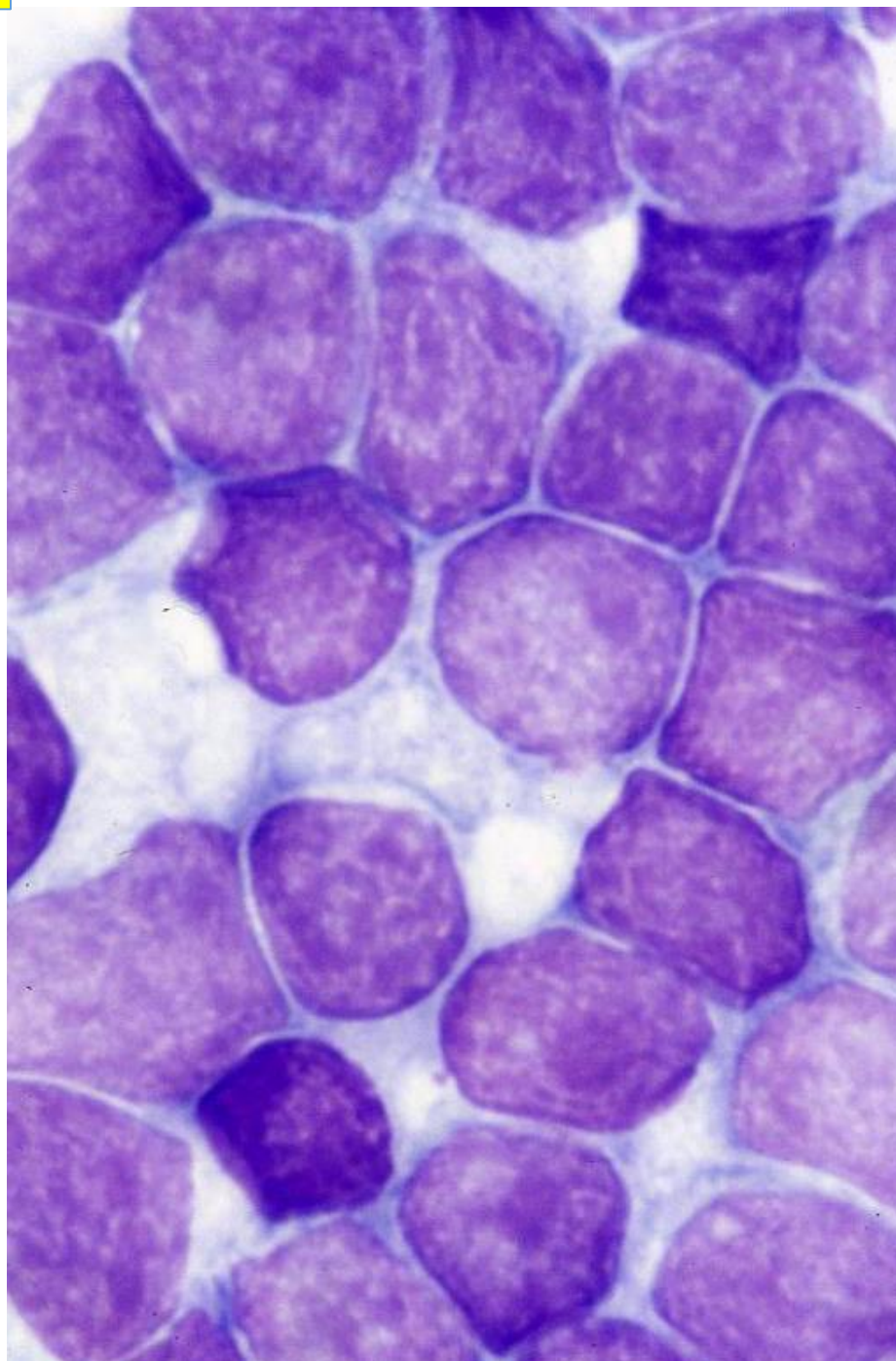
両者の鑑別は、リンフアデノグラムにより、小リンパ球の出現率を求めることで可能となる。

T細胞リンパ芽球リンパ腫

5歳、男

リンパ芽球が主体

× 100



核分裂像

Pap染色: 核・核小体所見→悪性と判断可能.
MG染色: リンパ芽球が単調に出現.

これはT細胞リンパ芽球リンパ腫です。

右のパパニコロウ染色では、
クロマチンが細かく、核形不整と目立つ核小体を有する中型細胞が多く
見られます。
また、核分裂像も観察され、活動的な細胞と理解できます。

[パパニコロウ染色所見]を踏まえ、
左のメイ・ギムザ染色では、
中型で、N/Cが高く、細かなクロマチン構造であることから、リンパ芽球から
成る本病変と診断できます。

この症例も、パパニコロウ染色が役立つ病変といえます。

非特定型・末梢性T細胞リンパ腫

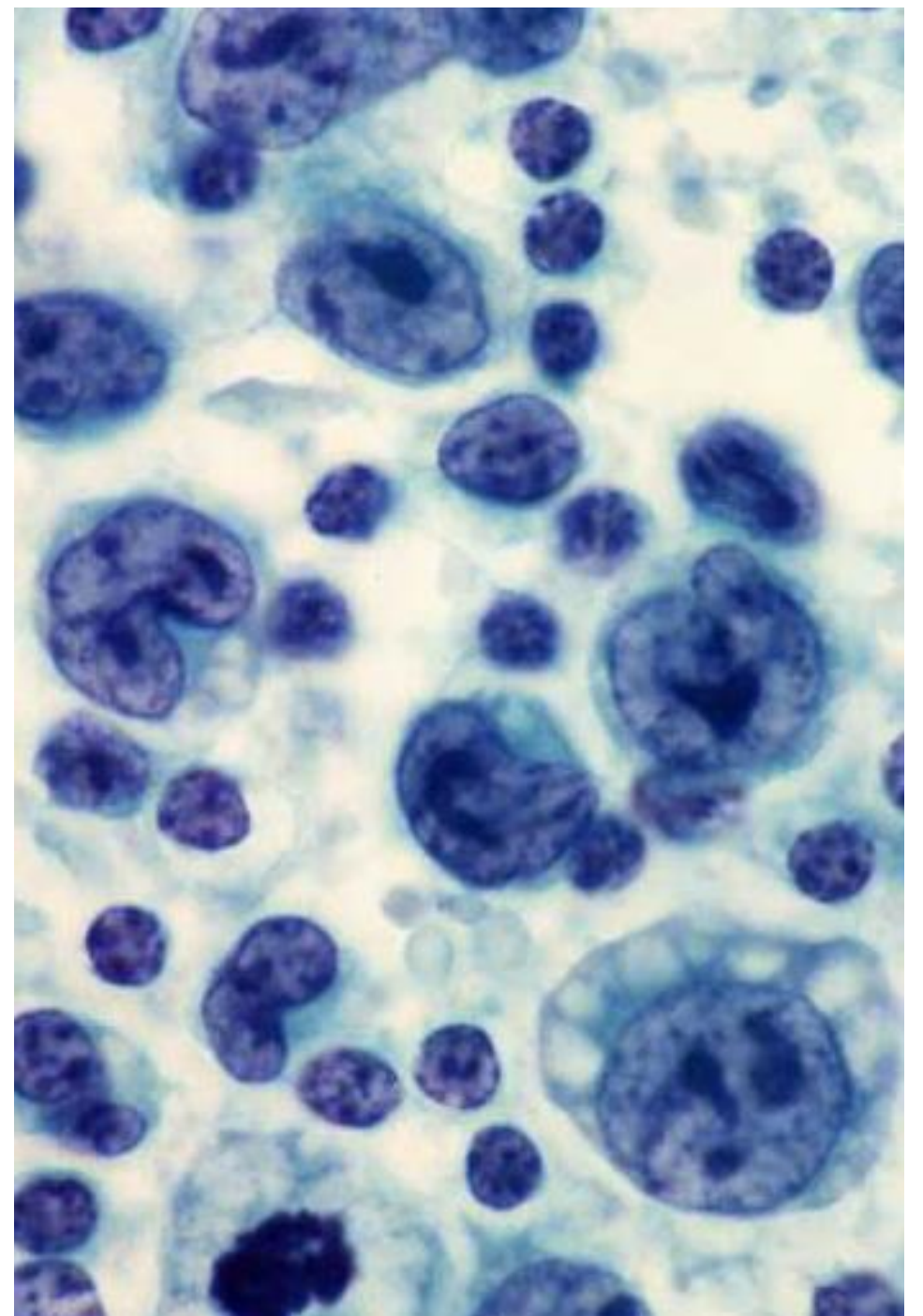
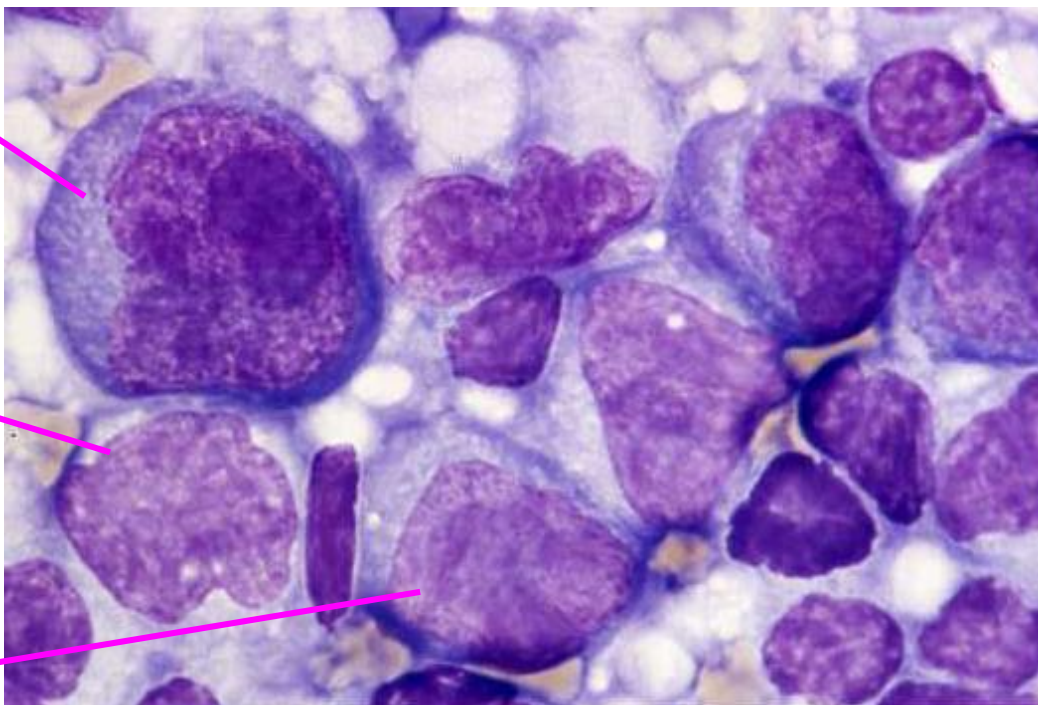
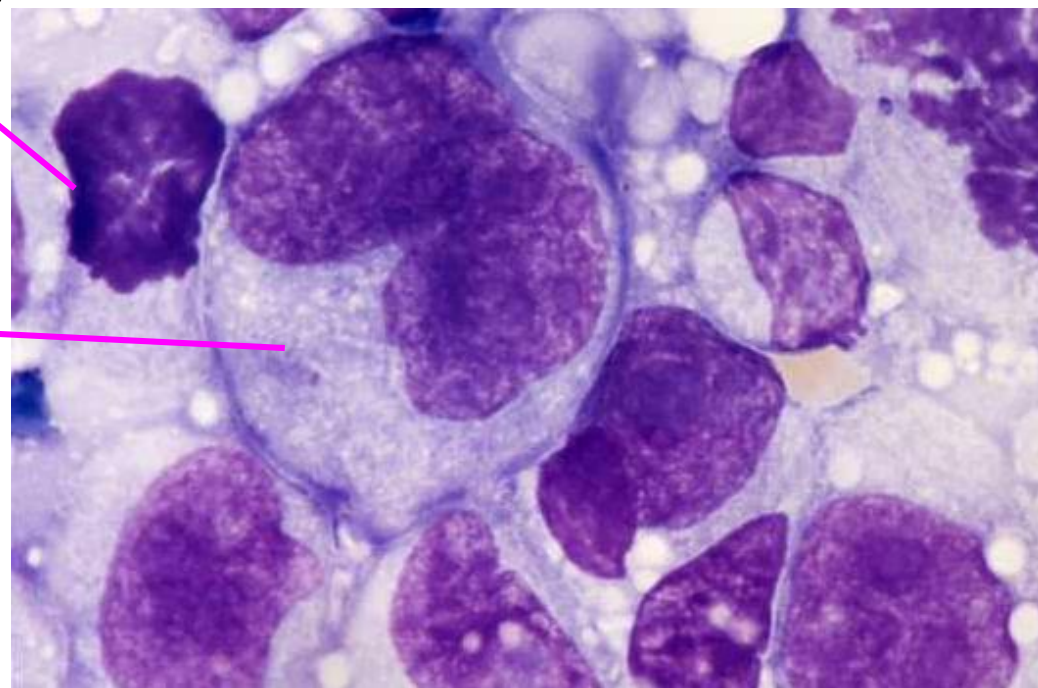
× 100

核分裂像

多核巨細胞

免疫芽球

大型類リンパ球



Pap染色: 核・核小体所見→悪性の判断は容易. **MG染色:** 巨細胞を混じえた多種多様な細胞像→T細胞性腫瘍を示唆.

非特定型の末梢性T細胞リンパ腫です。

どちらの染色でも、巨細胞を混じえた腫瘍細胞が見られます。

パパニコロウ染色では、
核形不整、目立つ核小体の所見から悪性の判断は容易です。

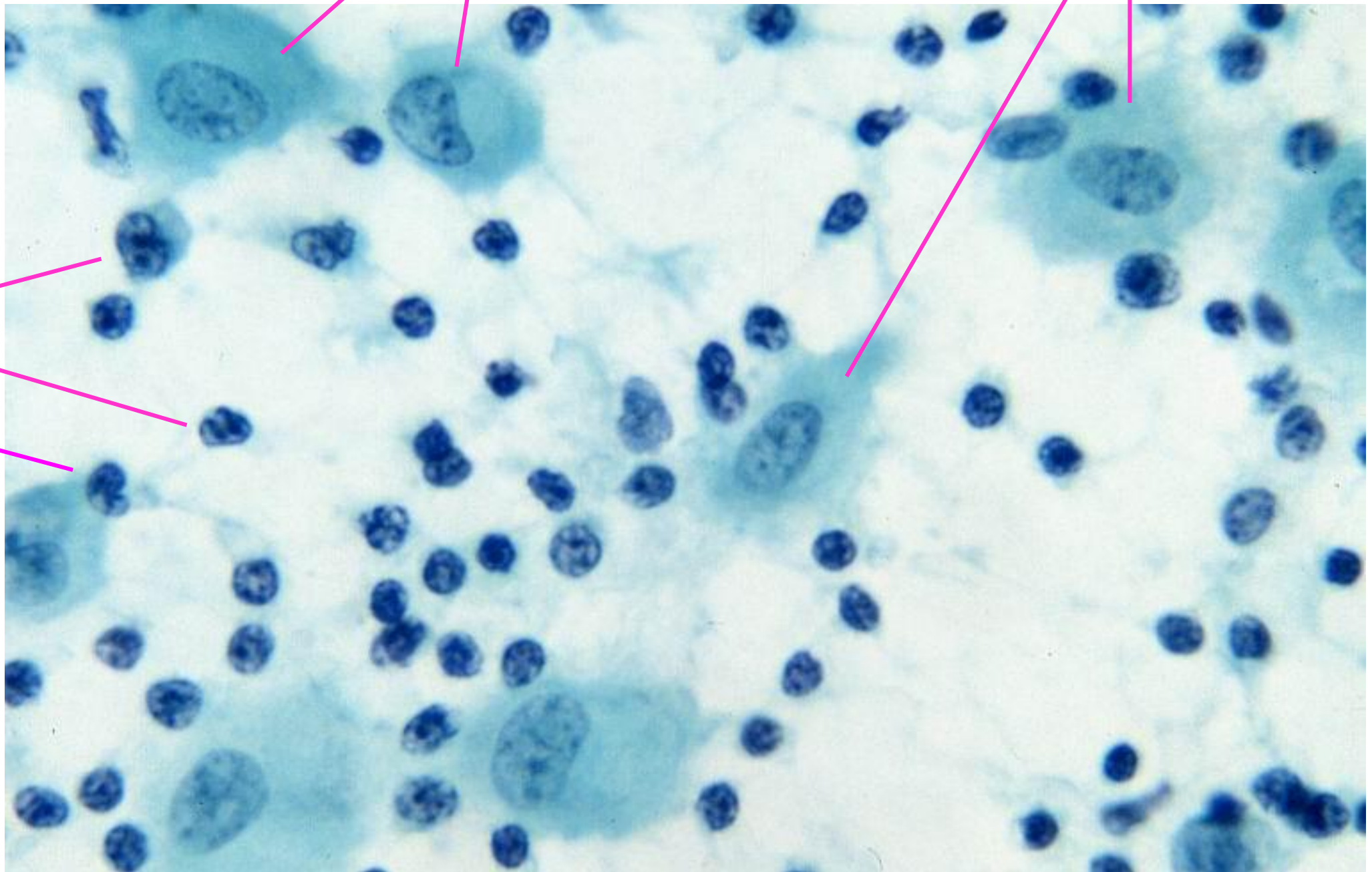
メイ・ギムザ染色での、
多種多様な細胞像は、一般的にT細胞性腫瘍を示唆する所見です。

非特定型・末梢性T細胞リンパ腫：Lennert リンパ腫

リンパ腫細胞により誘導された**類上皮細胞**が増加

× 40

核形不整



Pap染色：小型細胞の背景に多くの**類上皮細胞**が随伴している。
一見良性に思われるが**油浸観察**を行う。

これも、非特定型の末梢性T細胞リンパ腫の一つ、Lennertリンパ腫です。

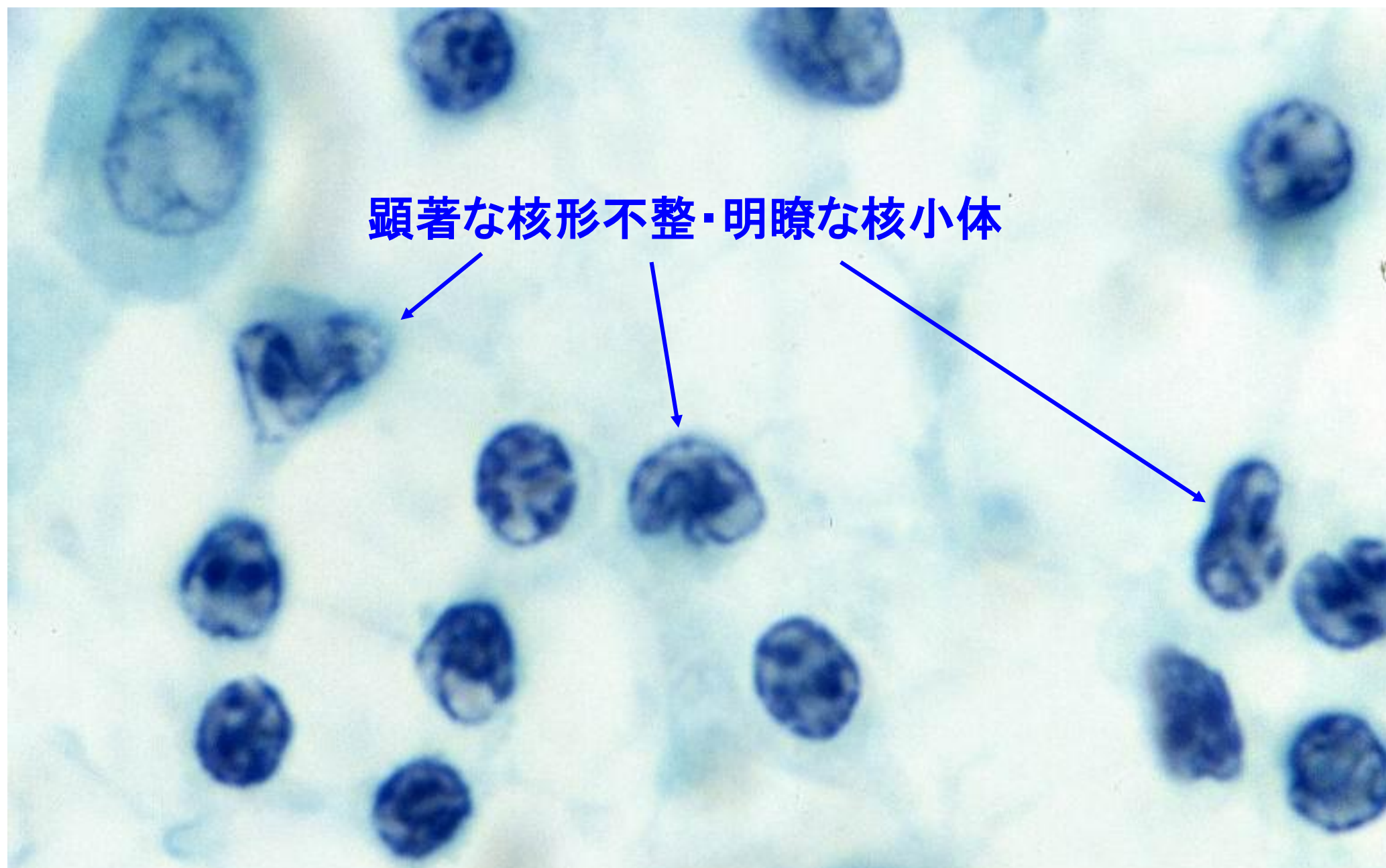
小型細胞とともに、類上皮細胞が認められます。

小型細胞は一見小リンパ球と思われませんが……→ [次ページへ]

末梢性T細胞リンパ腫・非特異型：Lennert リンパ腫

リンパ球系病変では、Pap染色での油浸観察が必須

× 100



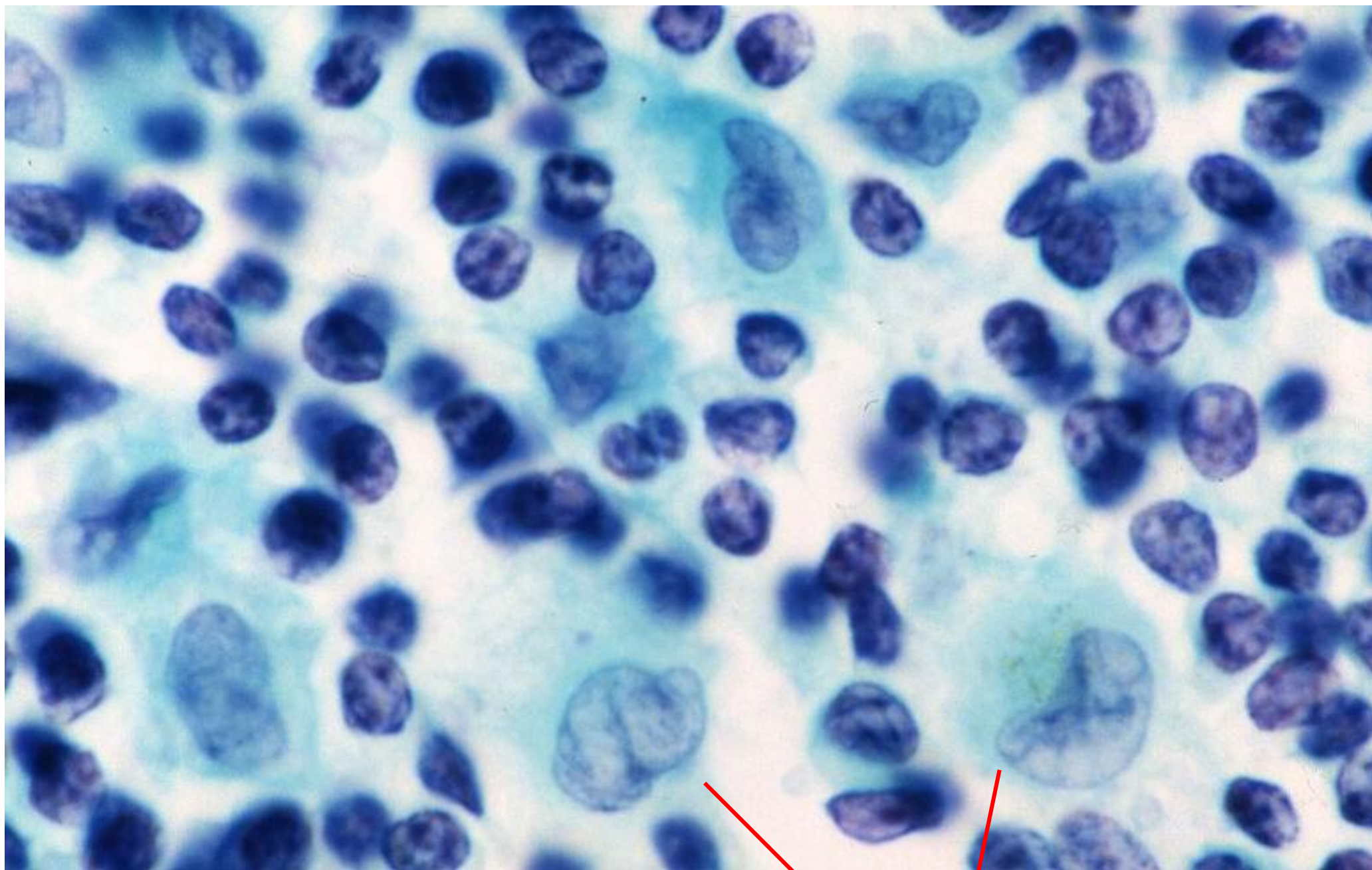
Pap染色：小型細胞ながら**顕著な核形不整・明瞭な核小体**→悪性と判断可能。
類上皮細胞は、大食細胞や樹状細胞などと共に、**Pap染色**で認識し易い。

その強拡大です。

背景に見られた小型細胞は、小型ながら顕著な核形不整、目立つ核小体を有する細胞、いわゆるISN-PN細胞の所見を示し、悪性リンパ腫と考えられます。

リンパ節細胞診では、必ず油浸でも観察する慎重さが必要です。

なお、類上皮細胞は、macrophageや樹状細胞などと同様に、メイ・ギムザ染色よりも、パパニコロウ染色での認識が容易です。



Interdigitating cell (核の「ねじれ」「くびれ」、細かいクロマチン、メラニン)

Pap染色: 油浸観察での核・核小体所見→**良性**の判断が可能.

ここで、Lennertリンパ腫と鑑別を要する良性病変として、皮膚病性リンパ節症の細胞像を供覧します。

一見Lennert リンパ腫に類似していますが、背景のリンパ球にはISN-PN細胞が見られないことから、良性病変と考えられます。

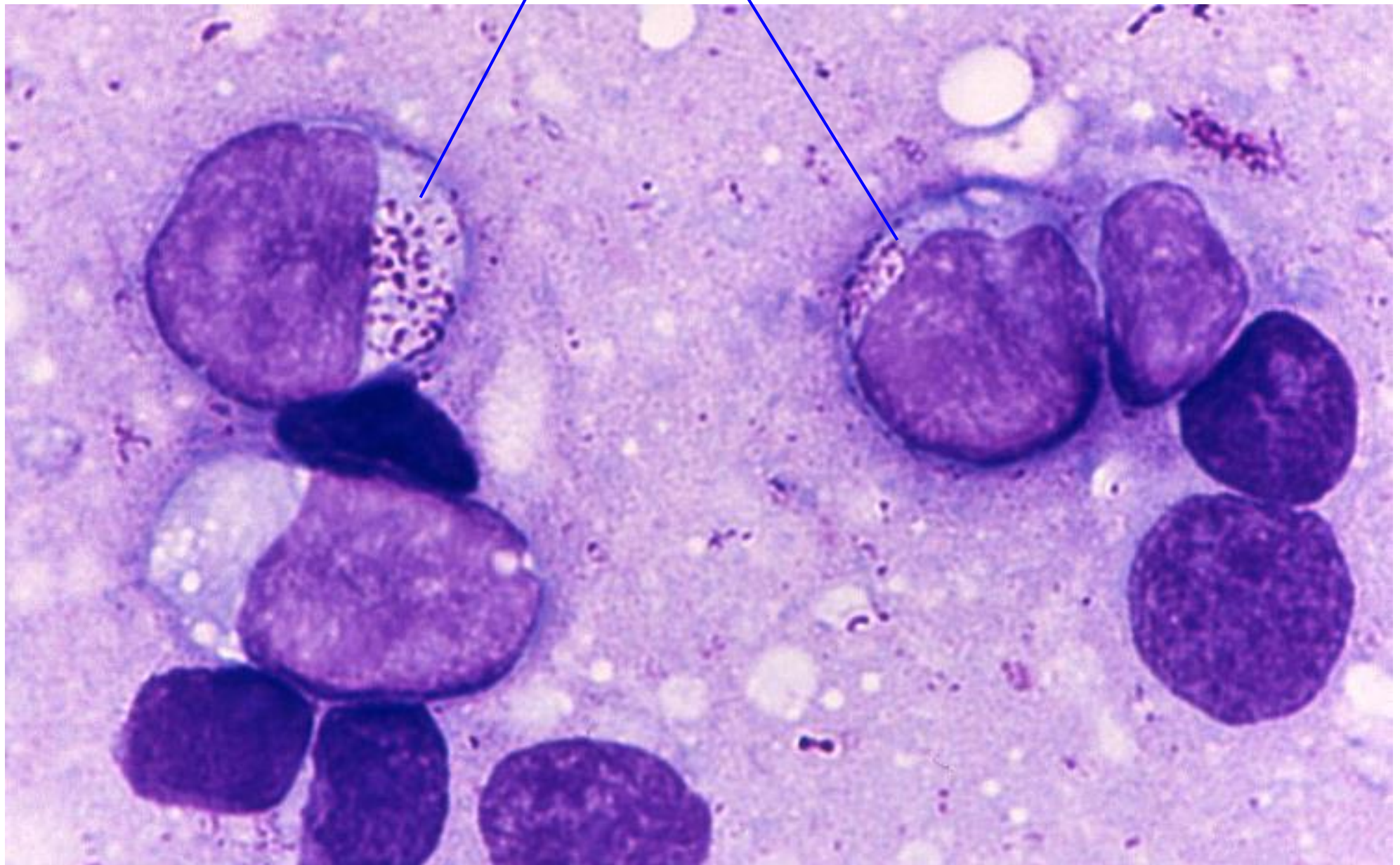
大型細胞は、核の「ねじれ」や「くびれ」、細胞質にメラニン顆粒を持つことからInterdigitating cellであり、類上皮細胞とは区別され、皮膚病性リンパ節症と考えられます。

節外性NK細胞リンパ腫・鼻型

直腸原発→皮下腫瘤捺印

アズール顆粒+

× 100



MG染色：アズール顆粒 [granzyme] を有する中～大型細胞として観察.
Pap染色：アズール顆粒の認識は困難である.

メイ・ギムザ染色が役立つリンパ腫として、節外性NK細胞リンパ腫を示します。

中型ないしやや大型の細胞で、細胞質にアズール顆粒が認められます。

アズール顆粒にはグランザイムなどが含まれており、メイ・ギムザ染色で観察可能ですが、パパニコロウ染色では顆粒の確認はできません。

注意を要する悪性リンパ腫と良性病変

注意 1 ホジキンリンパ腫：

※ 多数の小リンパ球の間に**少数の「主役」**が散在するリンパ腫.

注意 2 T細胞/組織球豊富型：

(びまん性B大細胞型Bリンパ腫の亜型)

※ **腫瘍細胞の出現率が低い**リンパ腫.

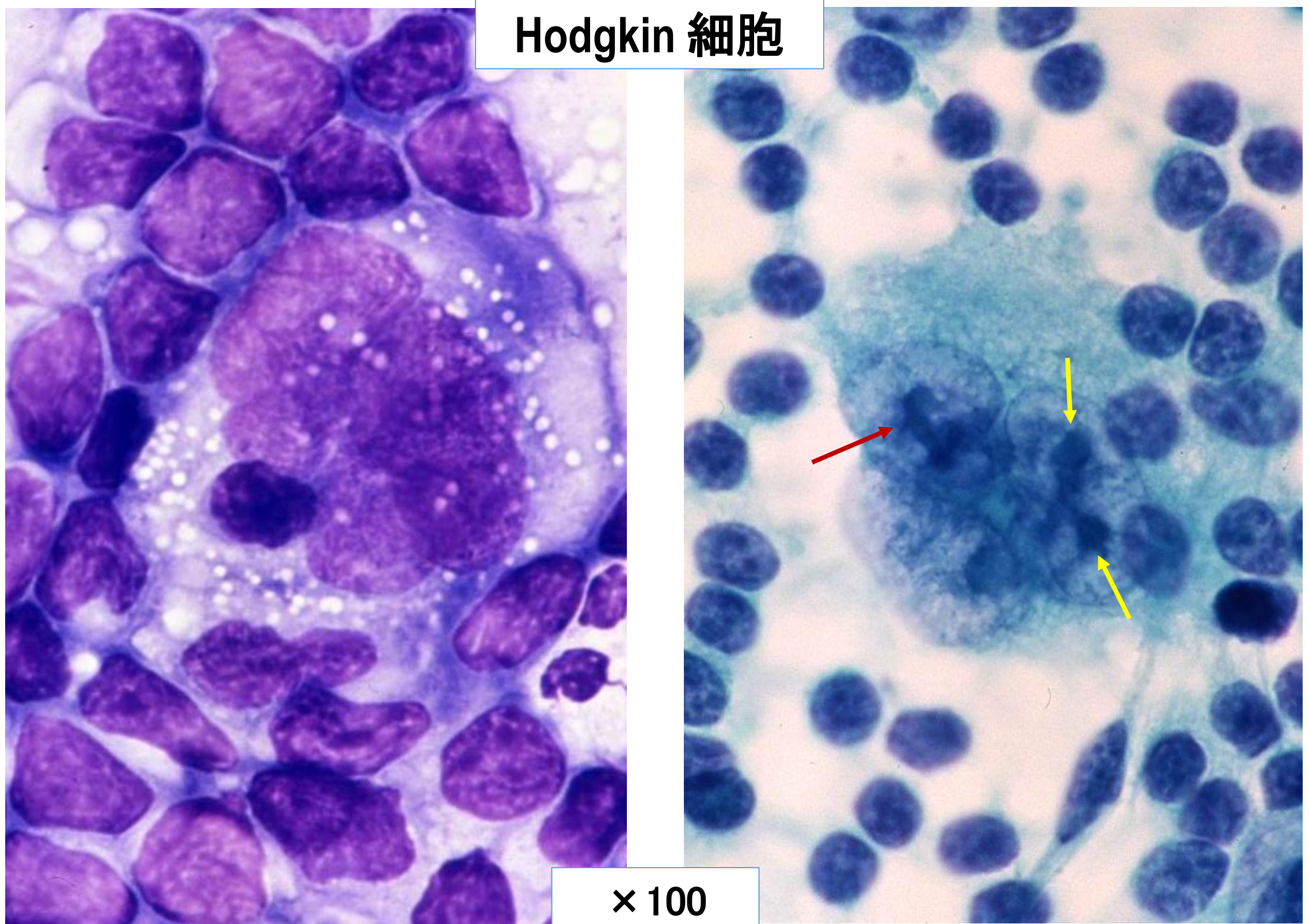
注意 3 未分化大細胞型リンパ腫：

※ **細胞間密着性**を示すリンパ腫：**Pap染色が適している.**

注意 4 反応性濾胞過形成：[良性病変]

※ **胚中心由来の大型類リンパ球が多く**、びまん性B大細胞型リンパ腫との鑑別を要する. **標本全体を見て判断する.**

以上、
日常遭遇するリンパ球系病変の細胞像の見方を、純細胞形態学的に解説しましたが、
さらにここで、留意すべき4つの病変の細胞像をお示しします。



古典的 Hodgkin リンパ腫です。
主体は小リンパ球ですが、主役は少数であっても「Hodgkin細胞」です。

「Hodgkin細胞」での核小体は、
メイ・ギムザ染色でも、一般に小リンパ球大で、類円形を示し、弧在性に認められますが、この症例ではそのような所見は認められません。

しかしながら、
パパニコロウ染色では、赤矢印と黄矢印のように、それぞれの核小体の長径の和としてとらえることで、Hodgkin細胞としての目立つ核小体の認識が可能です。

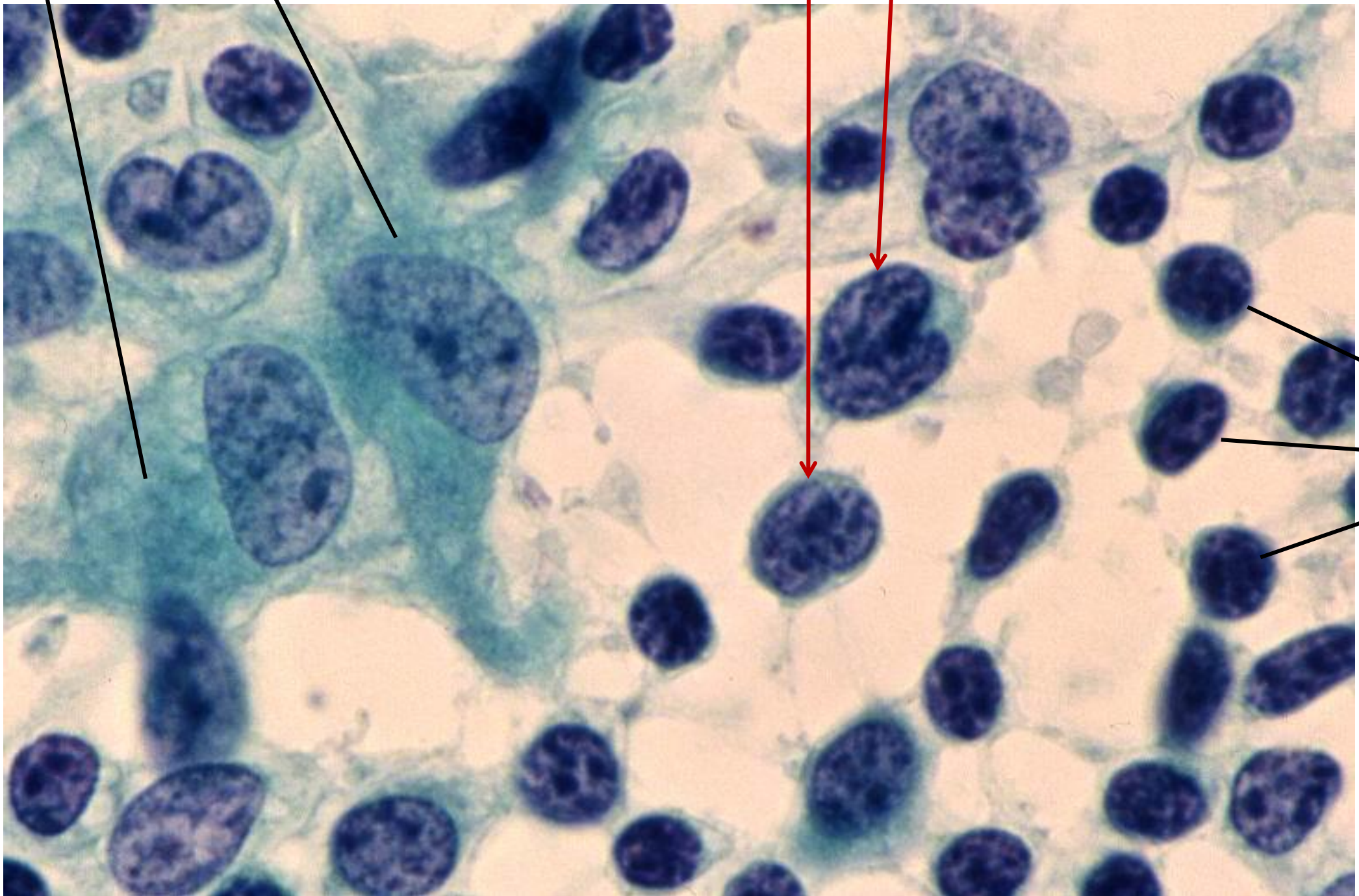
注意2

T細胞/組織球豊富型

類上皮細胞

少数のリンパ腫細胞:B

× 100



多数のT小リンパ球

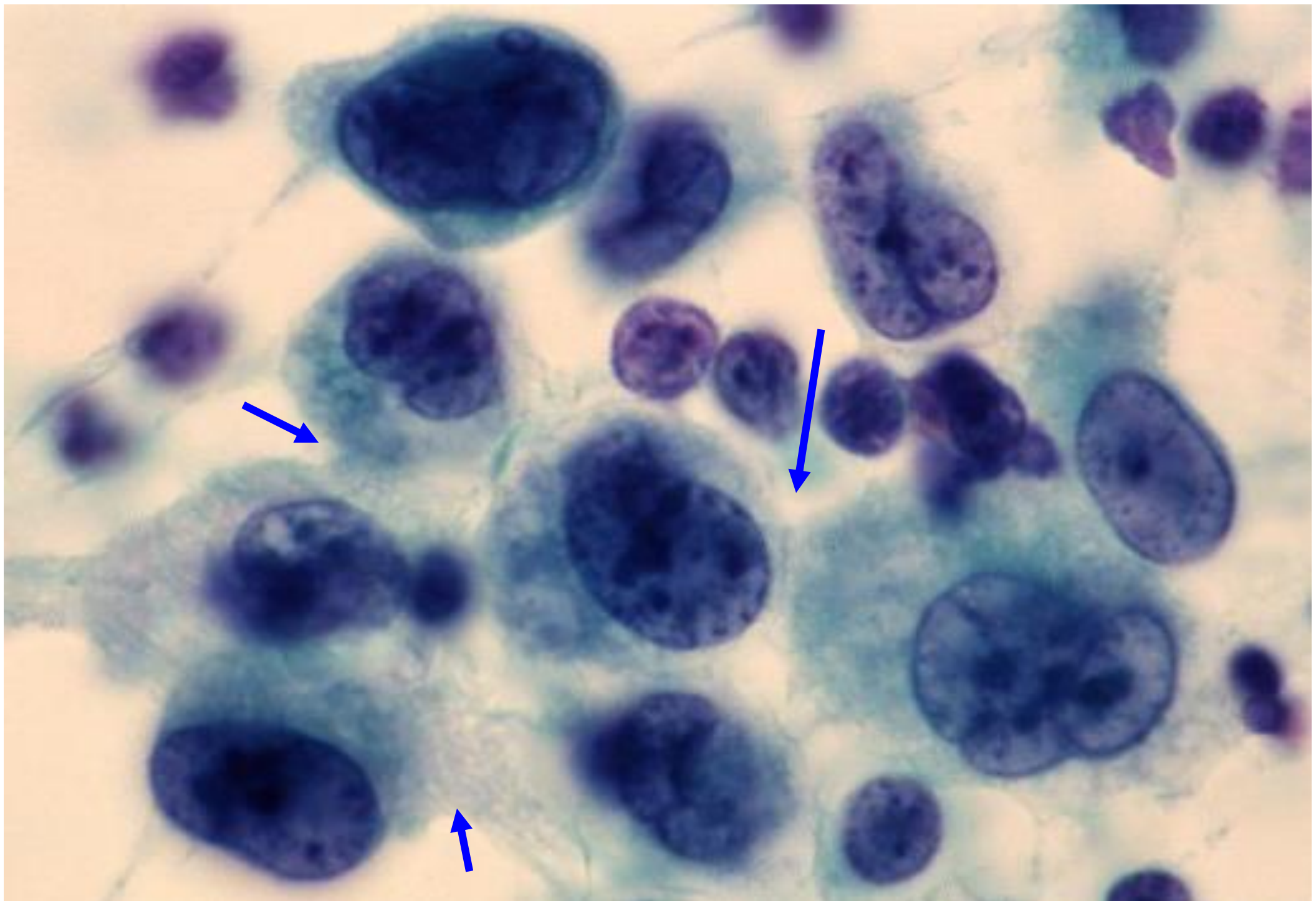
腫瘍細胞の出現率が低いリンパ腫

大細胞型Bリンパ腫の一つ、T細胞/組織球豊富型の症例です。

この病変も、主体は小リンパ球であることから、全体的には良性病変に類似する細胞像ですが、その中に少数の中型～大型の腫瘍細胞が散見されたリンパ腫です。

左側に見られるのは類上皮細胞ですが、赤矢印の細胞はISN-PN細胞の所見を示し、腫瘍細胞と認識できます。

リンパ節細胞診のピットホールの病的病変といえます。



[リンパ節] CD30陽性、ALK (p80) 陽性、EMA陽性

細胞間密着性を示すリンパ腫: Pap染色が適している.

これは、未分化大細胞型リンパ腫です。

通常、悪性リンパ腫は、散在性に出現しますが、このリンパ腫では例外的に細胞間密着性を観察することがあります。

細胞間密着性、あるいは結合性は、メイ・ギムザ染色よりもパパニコロウ染色での観察が適していますが、上皮性癌細胞との鑑別を要する悪性リンパ腫です。

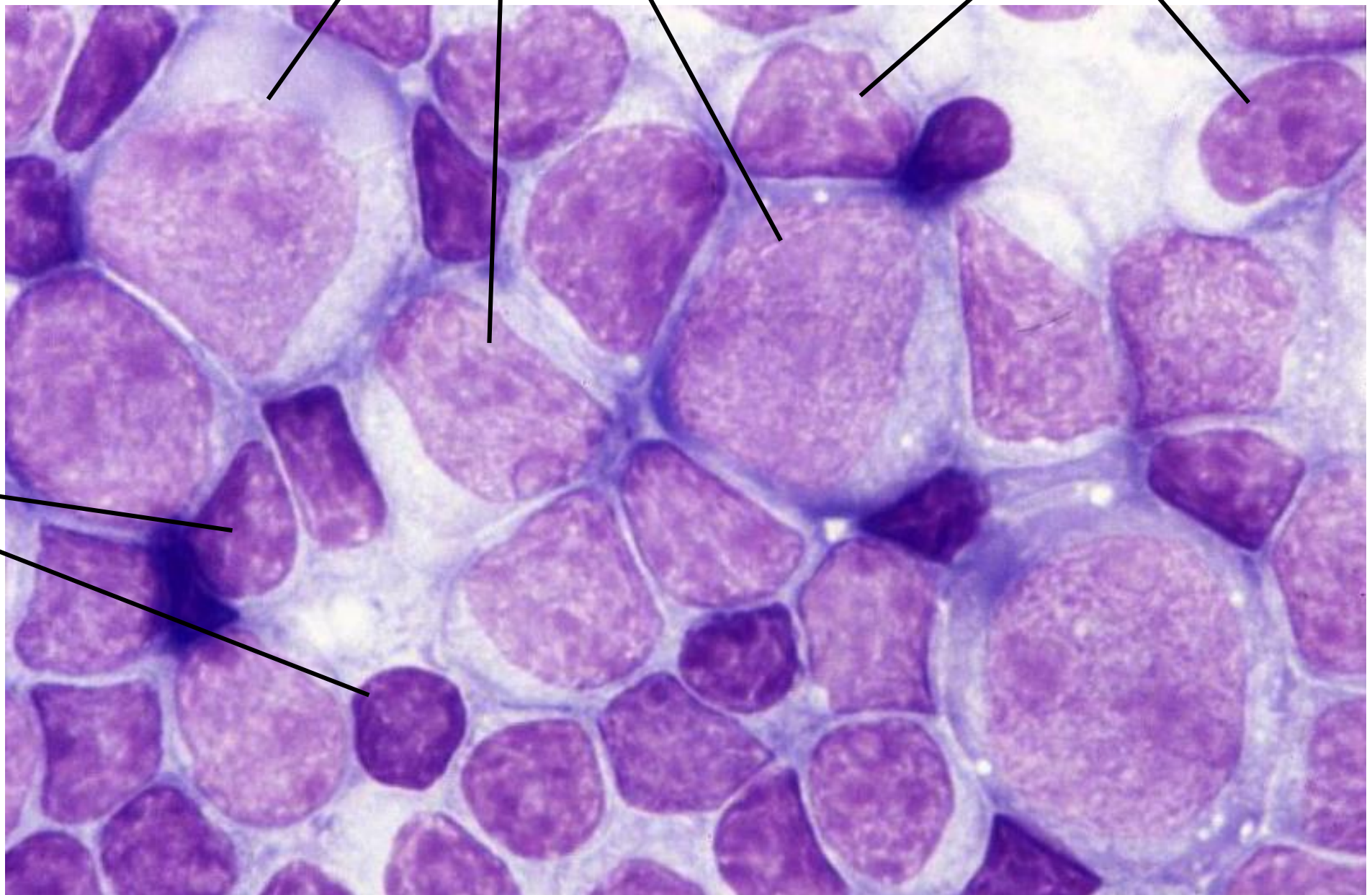
注意 4

反応性濾胞過形成

× 100

大型類リンパ球(centroblast)

中型細胞 (centrocyte)



胚中心由来の大型類リンパ球が多く、びまん性B大細胞型リンパ腫との鑑別を要する → 標本全体を見て判断する. 大型類リンパ球が15%未満→良性.

他方、良性例では、反応性濾胞過形成が、悪性リンパ腫との鑑別に苦慮する場合があります。

一般に、大型類リンパ球が15%近くになると、び慢性大細胞型Bリンパ腫との鑑別が必要となります。

本症例では、標本全体の観察により、主体が小リンパ球であることから、反応性濾胞過形成が考えられた症例です。

Pap染色の利点を活かした 甲状腺穿刺細胞診への応用 (隈病院例)

甲状腺穿刺での難しさと検討：
橋本病→MALTリンパ腫への移行に伴う
共存例が存在する。



- ・ 101症例に基づく腫瘍細胞の検討.
- ・ 判別分析による悪性所見の抽出.
- ・ MALTリンパ腫の特徴所見の検討.

ここで、甲状腺穿刺細胞診への応用についてお話しします。

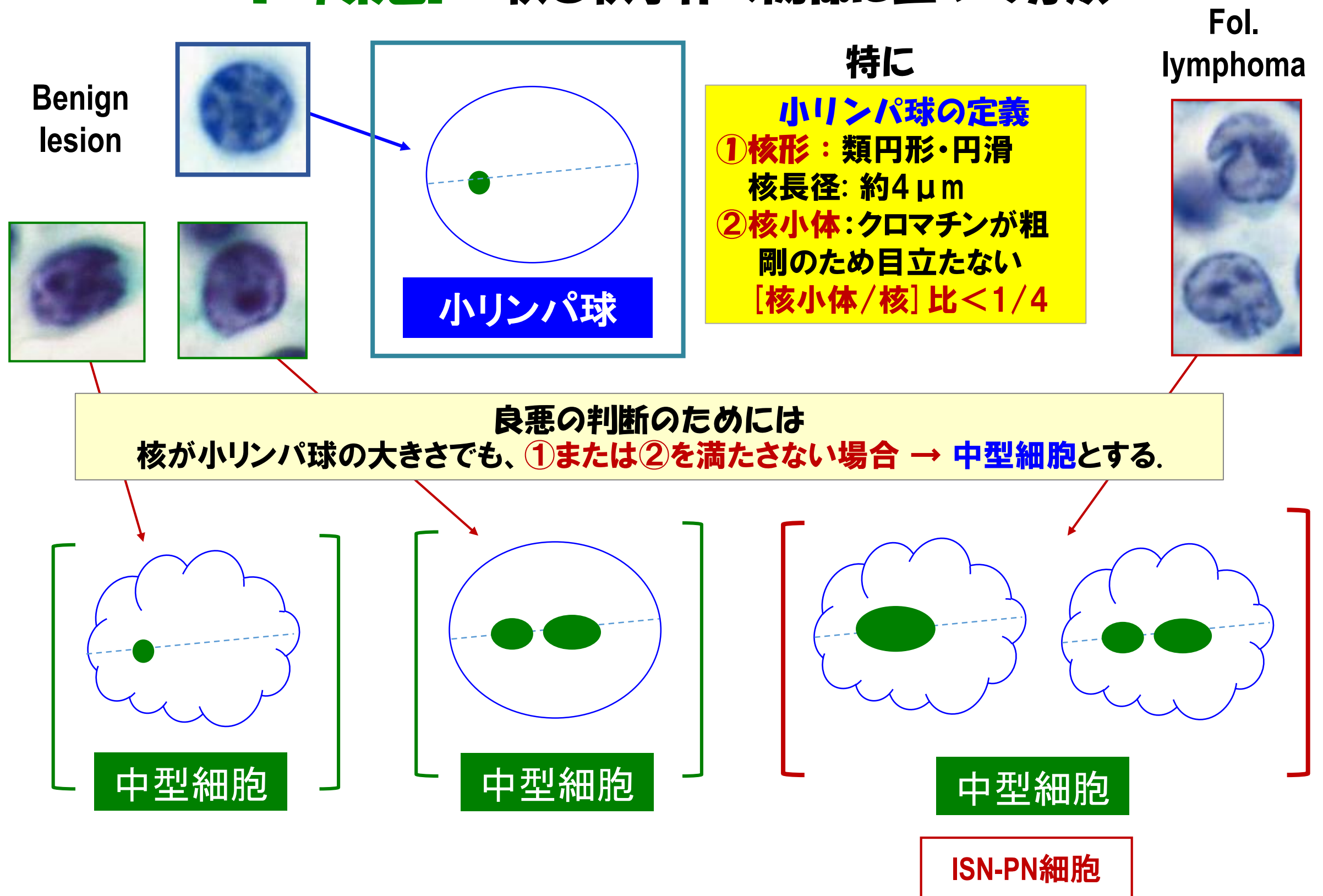
甲状腺穿刺での難しさは、
橋本病→MALTリンパ腫への移行に伴う共存例が存在することと、
腫瘍細胞が小型～中型であること、にあります。

そこで、私達は、

- ・ 101症例に基づく腫瘍細胞の検討.
- ・ 判別分析による悪性所見の抽出.
- ・ MALTリンパ腫の特徴所見の検討.

などを試みました。

[Pap染色] 核と核小体の関係に基づく分類



“ISN-PN” : irregularly shaped nucleus with prominent nucleolus

これは、すでにお示した、「核と核小体の関係による分類」です。

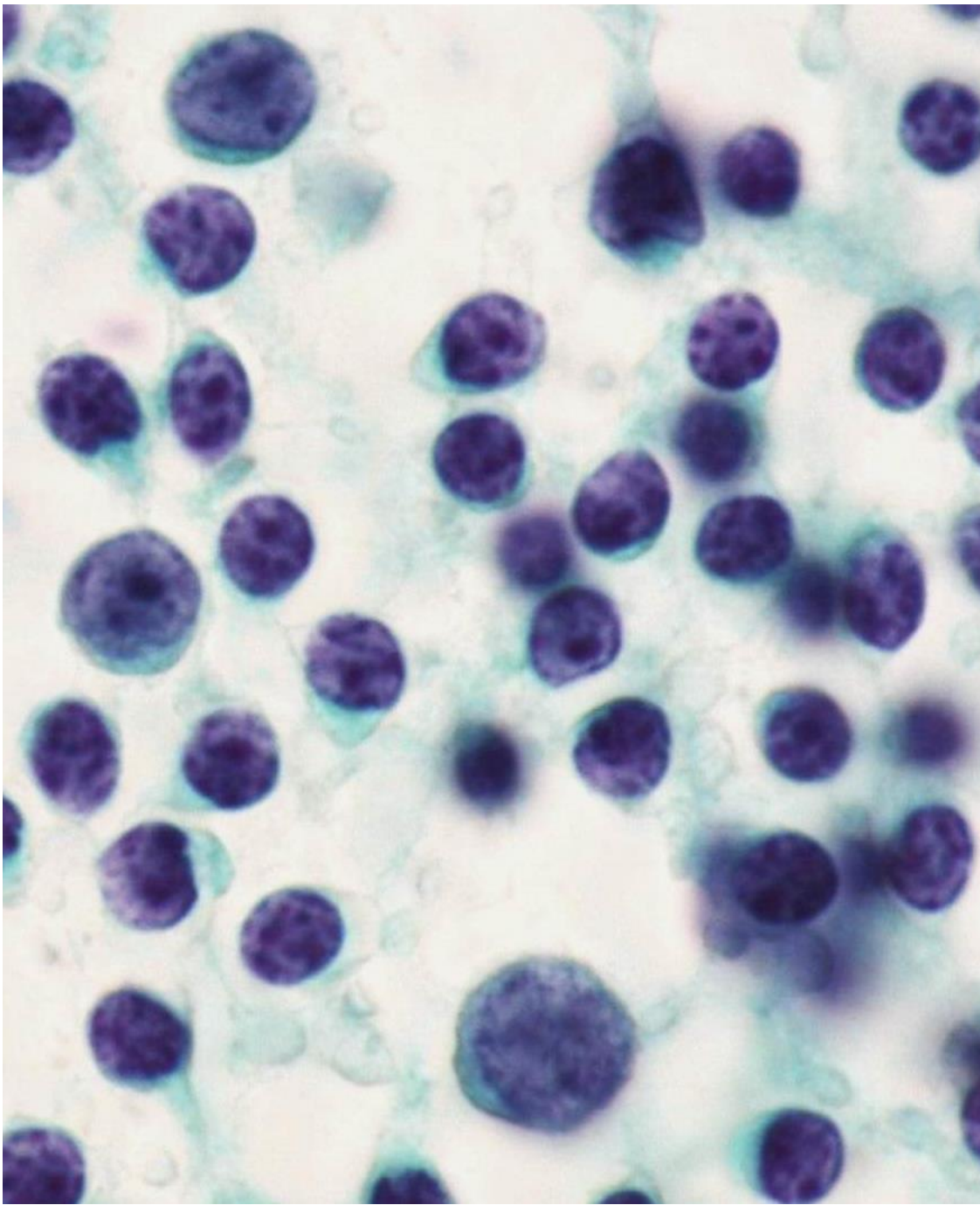
甲状腺では、橋本病に由来する小リンパ球と、小型～中型のMALTリンパ腫由来の腫瘍細胞を鑑別するために、この鑑別基準が有効です。

前述のように、「ISN-PN細胞」の出現率が20%以上か否かが、良悪性の鑑別点となります。

細胞像の比較

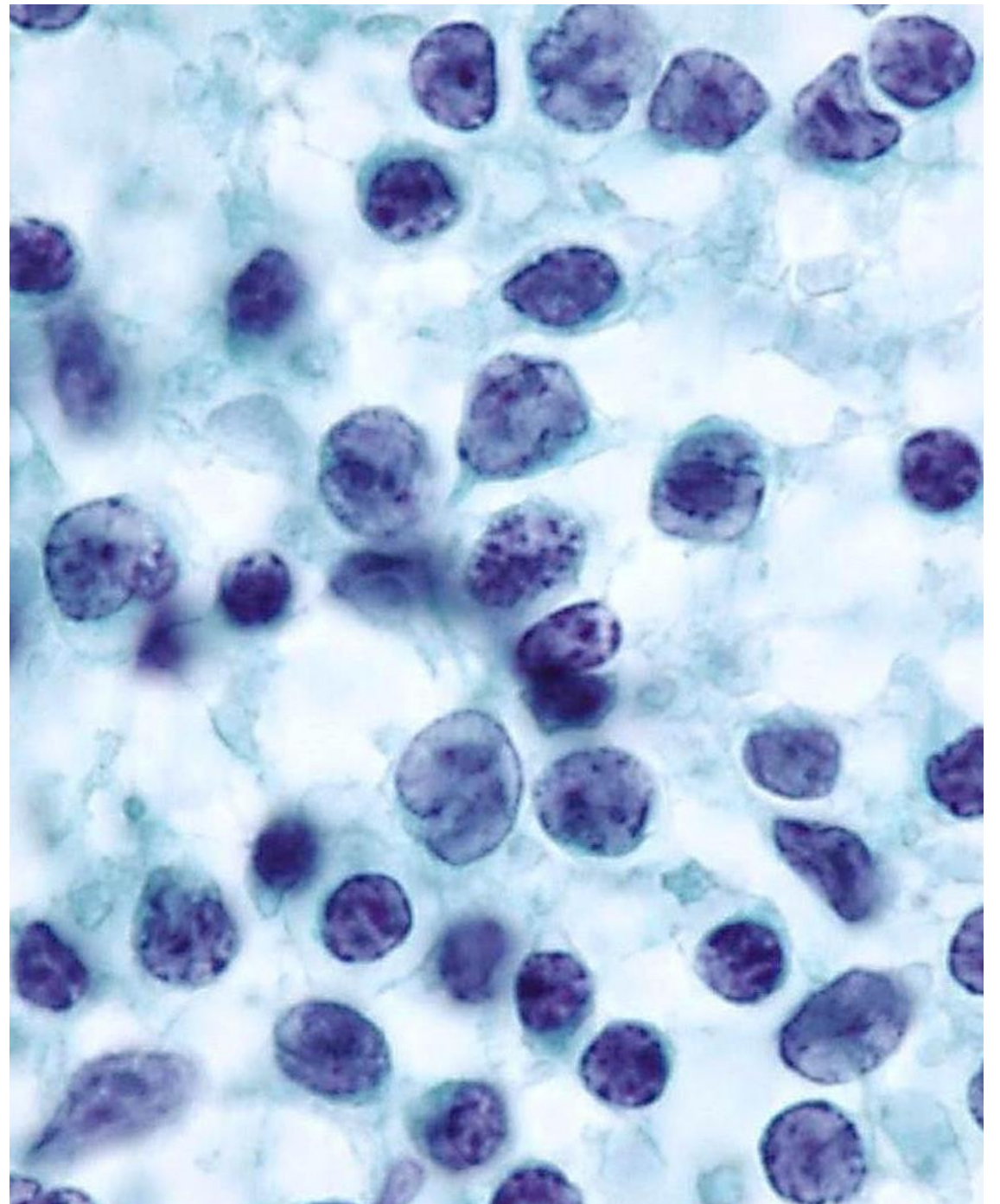
橋本病

ISN-PN 細胞の出現率 < 20%



Common-MALTリンパ腫

ISN-PN 細胞の出現率 $\geq 20\%$



× 100

橋本病と普通に見られるMALTリンパ腫の細胞を比較して示します。

左は橋本病で、小リンパ球が主体を成し、ISN-PN細胞の出現率は20%未満でした。

右はcommon-MALTリンパ腫で、ISN-PN細胞の出現率が20%以上を示すことからその診断は可能です。

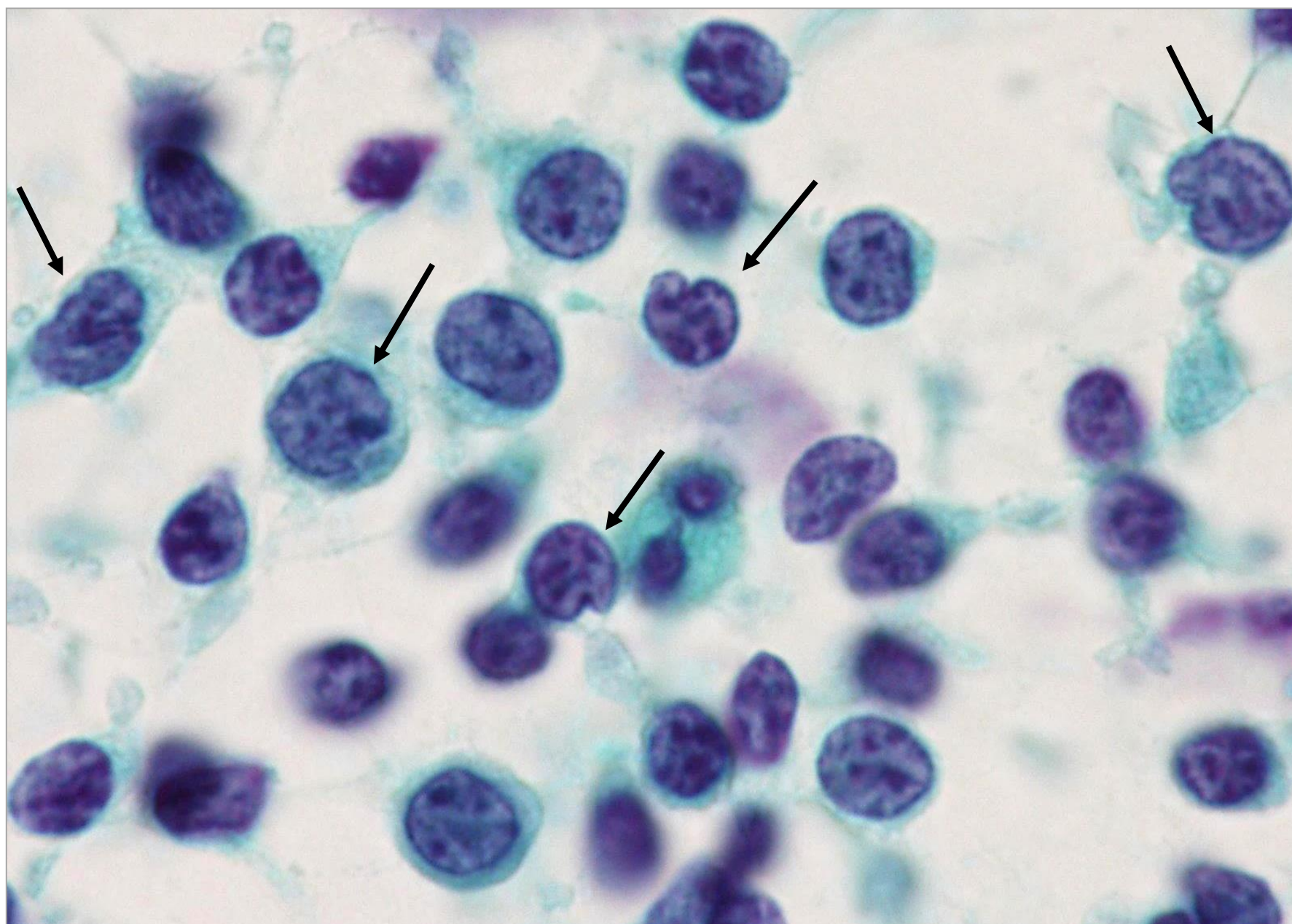
.....

【メモ】

全例 ISN-PN細胞>20%

平均 21~94%(平均40%)

ISN-PN 細胞 (矢印) $\geq 20\%$, 大型細胞 $< 15\%$ を満たしている.



※MALTリンパ腫とするには、
MALTリンパ腫の特徴所見に由来する細胞像が必要.

ここには、小型～中型のISN-PN細胞が20%以上認められます。

この所見から、悪性リンパ腫と考えることは出来ませんが、まだMALTリンパ腫とは診断できません。

すなわち、MALTリンパ腫と診断するためには、

■リンパ腫細胞の甲状腺濾胞上皮への浸潤像、
および、

■リンパ濾胞胚中心への浸潤像に由来する細胞像を、
確認する必要があります。

.....

【メモ】

なお、単球様細胞の観察はメイ・ギムザ染色では可能ですが、
パパニコロウ染色では困難です。

好酸性上皮絡みの
リンパ腫細胞

同一視野

Common-
MALTリンパ腫

濾胞樹状細胞(FDC)とマクロ
ファージ絡みのリンパ腫細胞

FDC

大食細胞

好酸性
細胞

× 40

Lymphoepithelial lesion由来

Follicular colonization由来

これは、MALTリンパ腫での、同一視野に見られた細胞集塊です。

右は、Follicular colonizationに由来する細胞集塊で、リンパ濾胞胚中心を示唆するFDC(濾胞樹状細胞)およびmacrophageとともに、赤矢印のISN-PN細胞が見られます。

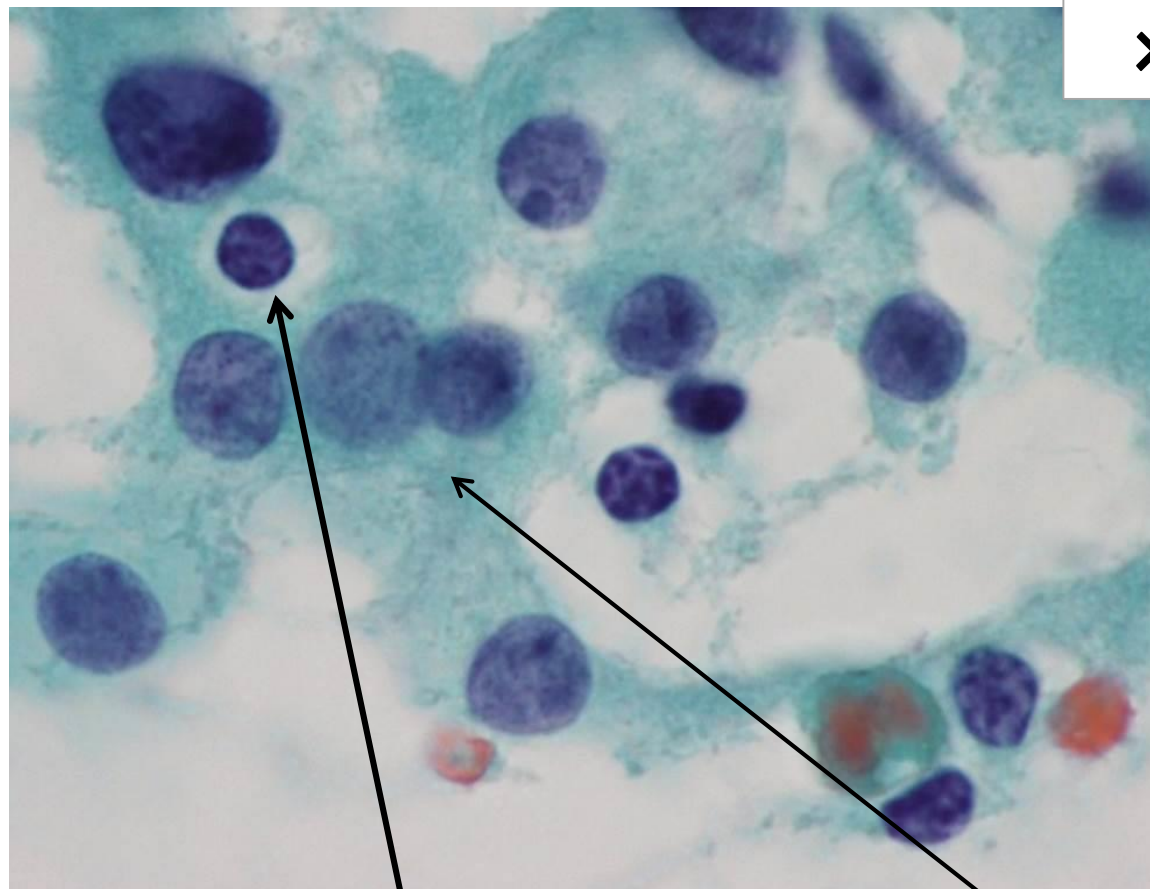
左は、Lymphoepithelial lesion (LEL) に由来する細胞集塊で、好酸性上皮内に白矢印で示すISN-PN細胞の浸潤が見られます。

由来の相異

橋本病

Lymphocyte-infiltrating
epithelial cluster

出現率
80%



小リンパ球 (T)

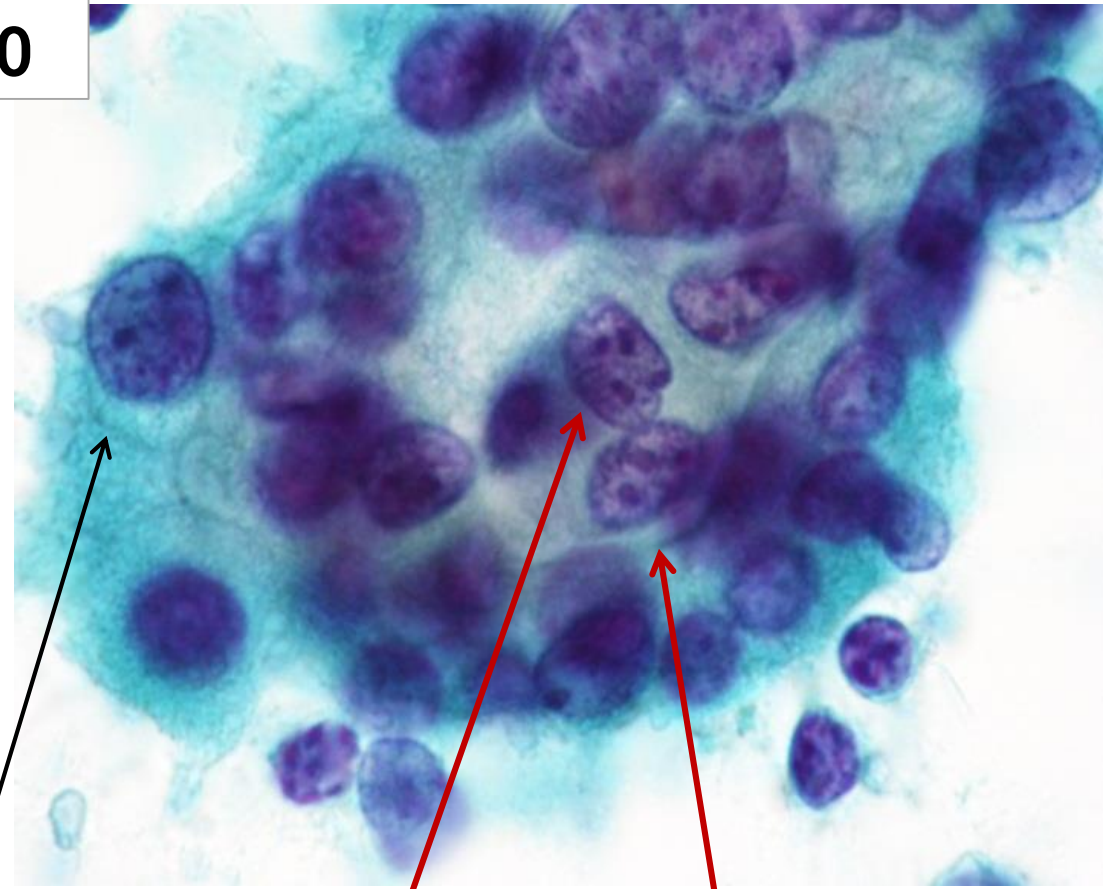
好酸性細胞

好酸性細胞の中に核異型のない
小リンパ球が少数混在している。

Common-MALTリンパ腫

LEL 集塊

出現率
75%



ISN-PN 細胞 (B)

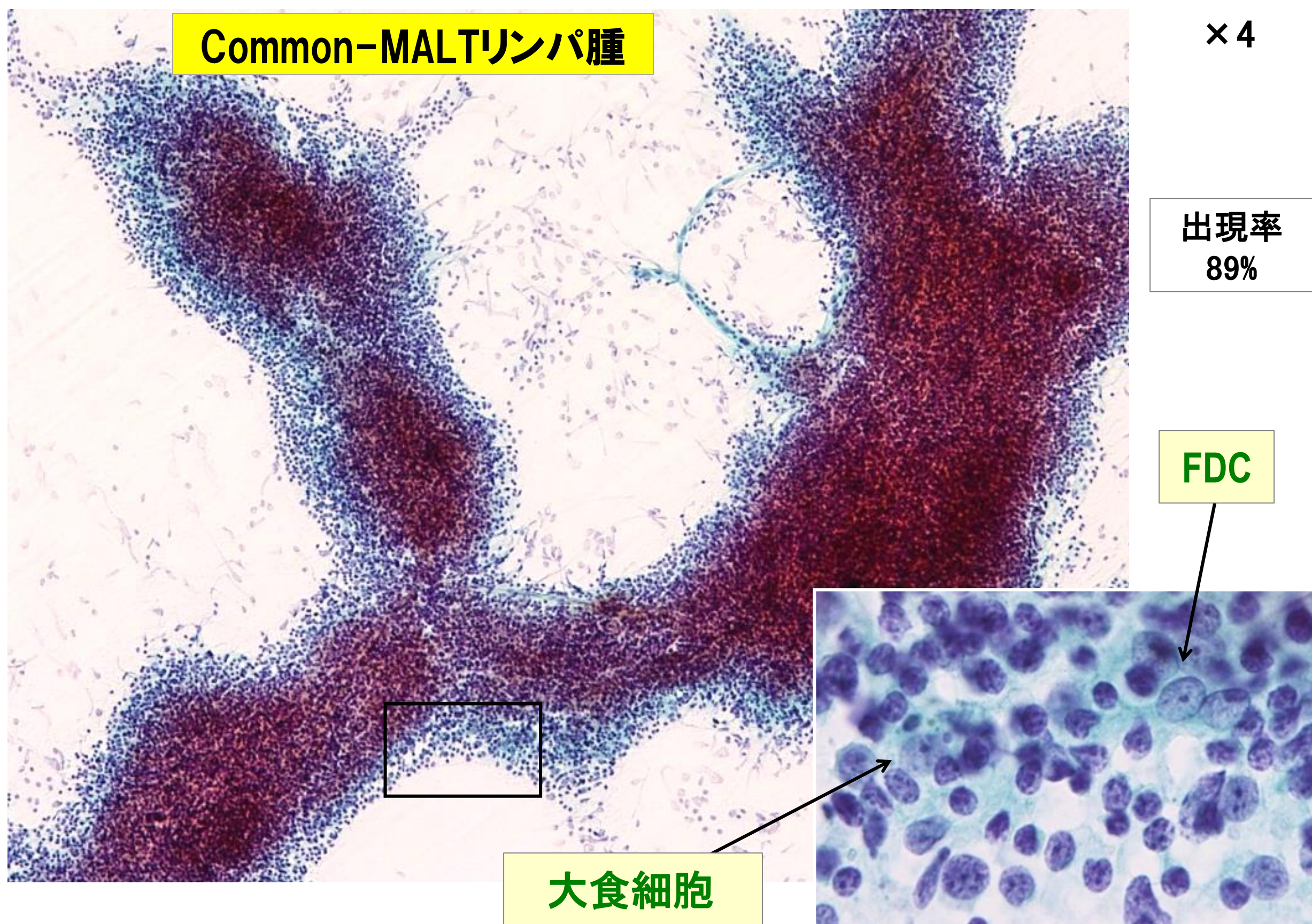
好酸性細胞の中にISN-PNの核を持つ
ISN-PN細胞が複数混在している。

右は、LEL由来細胞集塊の拡大像です。
ISN-PN細胞を赤矢印で示します。
このような集塊は、Common-MALTリンパ腫での75%に認められました。

左は、橋本病に見られた細胞集塊で、好酸性上皮内に少数の小リンパ球
の侵入像が観察できます。
この小リンパ球はT細胞性であることが確認できています。

なお、
このような集塊は、橋本病での80%に認められましたが、橋本病では、LEL
由来細胞集塊とは呼びません。

山脈状集塊 Mountain ranged like cluster (MRLC) : FC由来



これは、MALTリンパ腫の対物4倍で見られた、大きな細胞集塊です。
右下は、細胞集塊の裾野の拡大像で、ISN-PN細胞の間に、FDC(濾胞樹状細胞)と、macrophageが見られます。

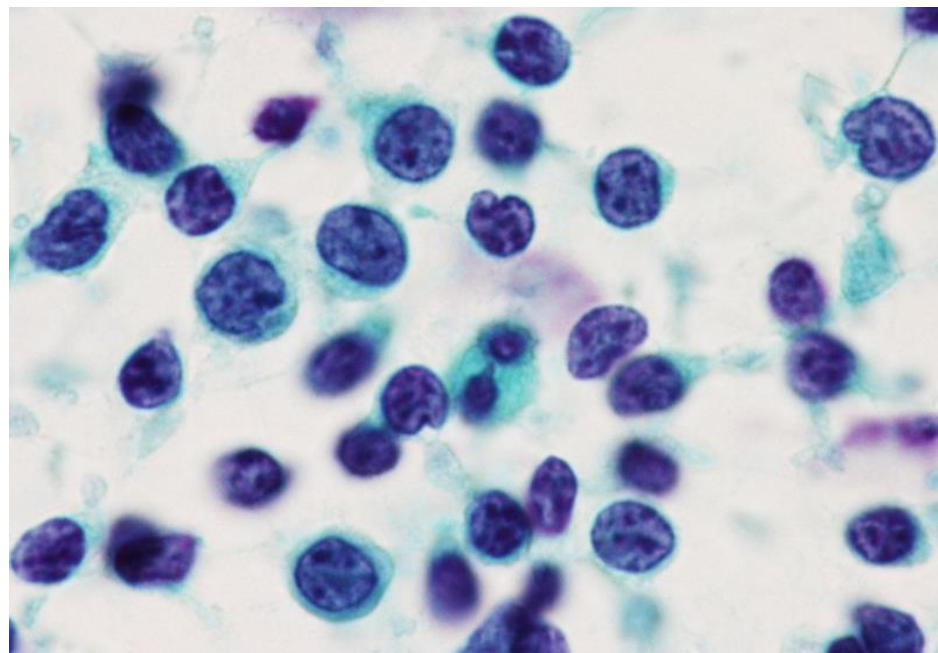
このことから、この集塊はFollicular colonizationに由来する細胞集塊であると考えられます。

私達は、このように低倍での視野をはみ出すほど大型で、連続した細胞集塊であることから、これを山脈状集塊とよんでいます。

なお、
MALTリンパ腫での山脈状集塊の出現率は89%で、橋本病では見られませんでした。

①

Common-MALTリンパ腫の細胞像



① ISN-PN細胞 ≥ 20
出現率: 100%

悪性リンパ腫
としての所見

②と③が共に出現
しなかったのは、
MALTリンパ腫: 1例

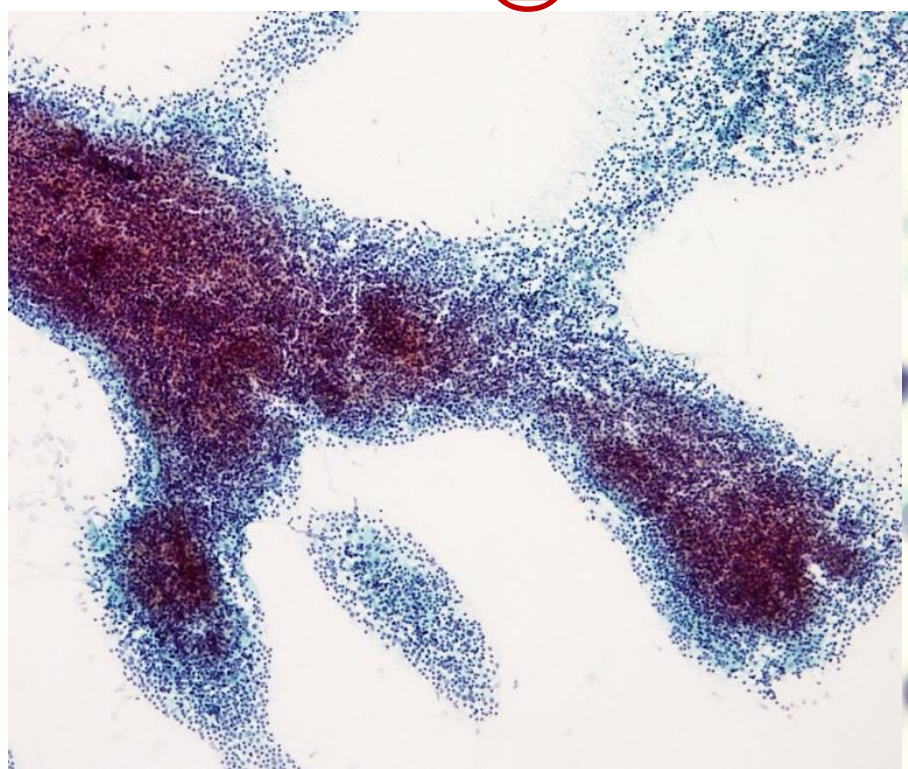
橋本病 (20例) とCommon-MALTリンパ腫 (44例) で
の

判別分析

所見①・②・③の3条件による診断精度
97% (P<0.00001). Wilks' λ test (P<0.05)

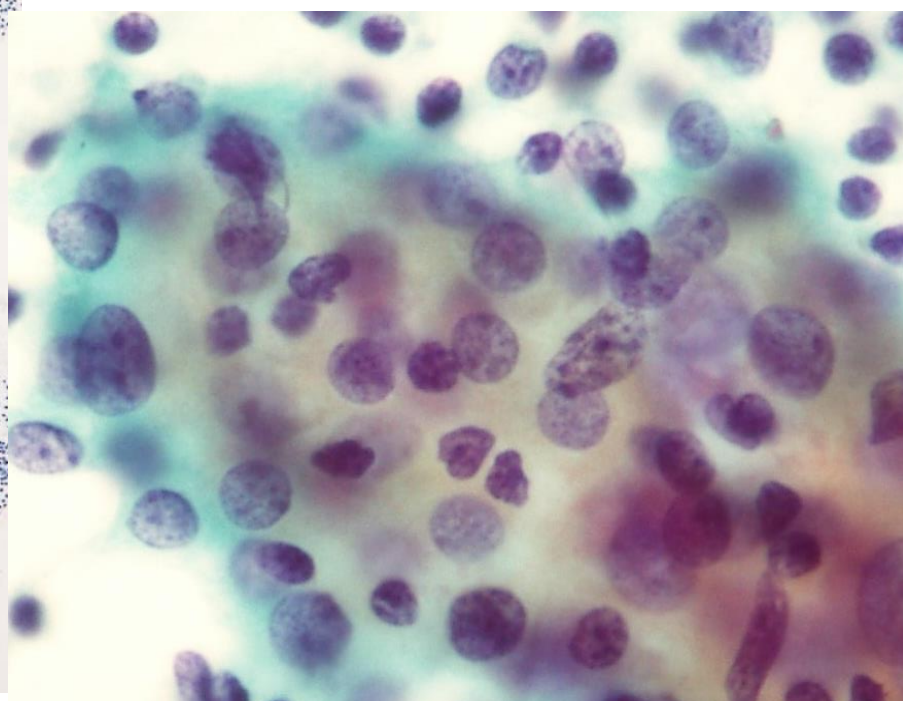
MALTリンパ腫を裏付ける所見

②



② 山脈状集塊
出現率: 89%

③



③ LEL集塊
出現率: 75%

甲状腺で、橋本病と、Common-MALTリンパ腫を鑑別する細胞像をまとめます。
①ISN-PN細胞の出現率は、全例が20%以上であり、それによる悪性リンパ腫である確率は97%でした。
②Follicular colonizationに由来する山脈状集塊は、約90%の症例で見られました。
③LEL由来・細胞集塊の出現率は75%でした。

判別分析により、これら3つの所見が揃えば、Common-MALTリンパ腫の診断確率は、97%でした。

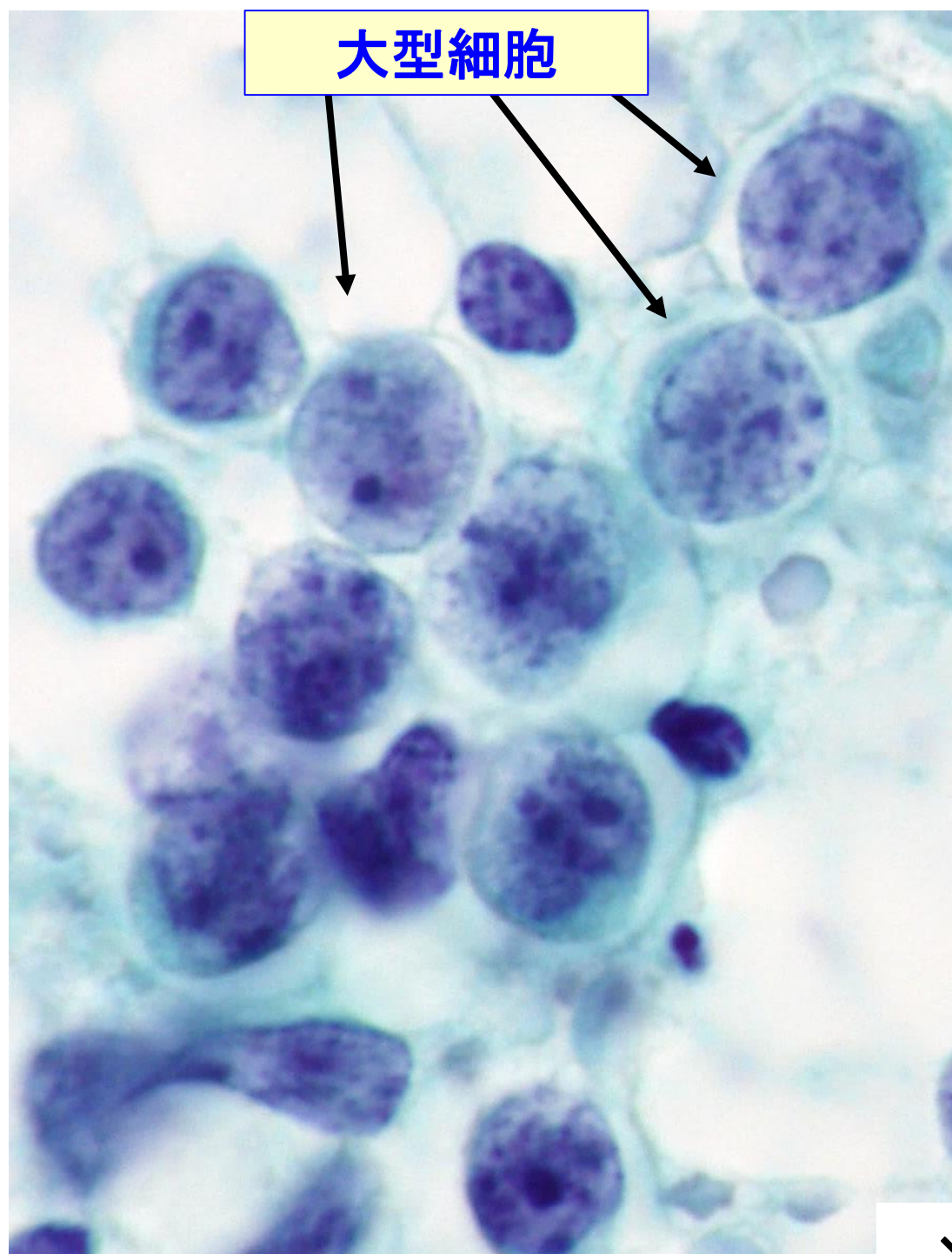
なお、
MALTリンパ腫で②と③の所見が共に出現しなかったのは1例のみでした。

.....

【参考】 Wilks' λ test (P<0.05)

び慢性大細胞型Bリンパ腫

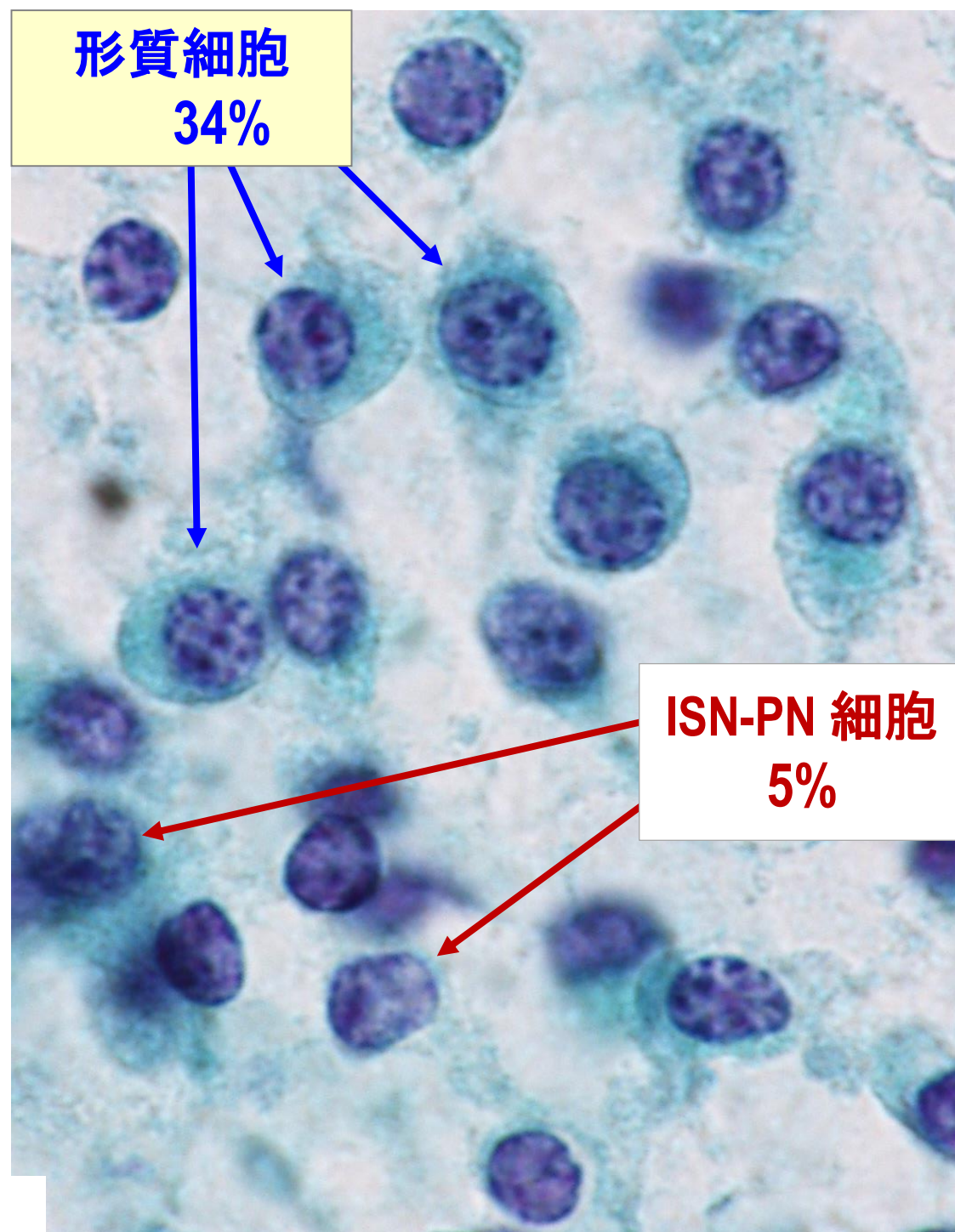
注:MALTリンパ腫としない。



× 100

著しく形質細胞への分化を示すMALT

[形質細胞 + ISN-PN細胞] = 39%



ちなみに、甲状腺でも、
左のように、び慢性大細胞型Bリンパ腫が見られますが、WHO分類では、
大型細胞の多い症例はMALTリンパ腫として扱われていません。

また、
右は、「著しく形質細胞への分化を示すMALTリンパ腫」で、MALTリンパ腫の
約15%に見られました。
結論的に、
右症例のように、形質細胞もISN-PN細胞と同じく腫瘍細胞であり、
さらに形質細胞出現率が15%以上、かつISN-PN細胞との出現率の和が
30%以上であれば、本病変が考えられます。

まとめ

- 1) リンパ球系病変での、良悪性の基本的な鑑別点を中心に述べた。
- 2) **純細胞形態学的検討方法**として、**リンフアデノグラム**が有用であり、小リンパ球と中型細胞の鑑別が良・悪性の鑑別につながる。
- 3) **Pap染色**では、**[核形]**と**[核小体/核]比**に注目し、小リンパ球と**ISN-PN細胞**の出現率から良悪性を判断する。
- 4) **小リンパ球 $\geq 50\%$** **: 良性病変の可能性が大.**
小リンパ球 $< 50\%$, ISN-PN細胞 $\geq 20\%$: 悪性病変の可能性が大.
- 5) **MG染色**での、細胞構成の観察は、組織型の推定に有用である。
- 6) 以上のことが、**ガイドライン**の運用に役立てば幸いである。

【まとめ】です。

- 1) リンパ球系病変での、良悪性の基本的な鑑別点を中心に述べました。
 - 2) 純細胞形態学的検討方法として、リンフアデノグラムが有用であり、小リンパ球と中型細胞の鑑別が、良・悪性の鑑別につながります。
 - 3) パパニコロウ染色では、**[核形]**と**[核小体/核]-比**に注目し、小リンパ球とISN-PN細胞の出現率から良悪性を判断します。
 - 4) 一般的に、小リンパ球が50%以上の場合、良性病変の可能性が大です。
小リンパ球が50%未満で、ISN-PN細胞が20%以上の場合、悪性病変の可能性が大です。
- その上で、
- 5) メイ・ギムザ染色での、細胞構成の観察は、組織型の推定に有用となります。

最後に、以上のことが、細胞診ガイドラインの運用に役立てば幸いです。

謝 辞

第58回日本臨床細胞学会総会会長: 植田 政嗣先生

座長: 杉原 志朗先生 (群馬健康づくり財団)

ご助言・ご協力:

小島 勝先生 (独協医科大学)

廣川 満良先生 (隈病院 病理診断科)

隈病院 臨床検査科スタッフの皆様

愛知県がんセンター病院 スタッフの皆様

城下 尚先生 (東邦病院 健康増進予防センター)

ネモフィラ畑 花フェスタ記念公園, 岐阜県可児市. 2017.4.23

謝辞

この解説集は、第58回日本臨床細胞学会総会(植田政嗣会長、於 大阪市)での教育講演(2017.5.28、座長 杉原志朗先生)を基に編集したものです。

本解説集をまとめることができましたのも、私一人の力で成し得たものではなく、愛知県がんセンター病院在籍中にご指導頂いた須知泰山先生、栗田宗次先生、群馬大学赴任当初より終始貴重な学術的ご支援を頂いた小島 勝先生、甲状腺症例の研究の機会を与えて頂いた廣川満良先生、そして、哲学的視点から優しく時に厳しく激励して頂いた田嶋基男先生はじめ、多くの方々のご理解とご支援によるものと、あらためてここにお名前を記させて頂き、心より感謝申し上げます。

愛知県がんセンター病院関係:

小川一誠先生, 越川 卓先生, 小池考一技師,
鬼頭邦吉技師, 所 嘉朗技師

隈病院関係:

宮内 昭先生, 山尾直輝技師, 樋口観世子技師,
延岡由梨技師, 高木 希技師, 鈴木彩菜技師, 高田奈美技師

群馬大学関係:

城下 尚先生

関連文献

- 栗田宗次, 小川一誠, 蒲 貞行, 菱田隆子, 須知泰山. 悪性リンパ腫の穿刺細胞診, 日本臨床細胞学会雑誌 17:47-53, 1978.
- 蒲 貞行. リンパ節、その他の捺印細胞診 – 非上皮性病変の細胞像を中心に, 日本臨床細胞学会雑誌 19(補冊):107-110, 1980.
- 蒲 貞行, 村瀬和子, 布施清子, 黒木須雅子, 木島悦子, 栗田宗次, 鈴木亮而, 須知泰山. リンパ節捺印細胞診の成績 – とくに、L S G分類に基づく非ホジキンリンパ腫について –, 日本臨床細胞学会雑誌 22:192-201, 1983.
- 栗田宗次, 蒲 貞行. リンパ節の細胞診 「臨床検査MOOK21・細胞診」, 山中 學, 村地 孝, 林 康之編集主幹, 金原出版, 東京 162-176, 1985.
- 栗田宗次, 杉浦孝彦, 布施清子, 奥田克子, 蒲 貞行, 他. びまん性多形細胞型リンパ腫における細胞像とATLA抗体および表面抗原との関連性について, 日本臨床細胞学会雑誌 27:894-97, 1988.
- 蒲 貞行, 鬼頭邦吉, 鈴木亮而, 栗田宗次, 須知泰山. ギムザ染色で形態観察ができる、リンパ球表面抗原検出のための酵素抗体法について, 日本臨床細胞学会雑誌 28:1-110, 1989.
- Shigeo Nakamura, Sadayuki Kaba, Takashi Koshikawa, Taizan Suchi, Soji Kurita. Imprint Cytology and Immuno-histochemical Study of Interdigitating Cell Sarcoma, Diagnostic Cytopathology 7: 553-55, 1991.
- 栗田宗次, 越川 卓, 中村栄男, 蒲 貞行, 布施清子, 他. 悪性リンパ腫を主とするリンパ節の穿刺細胞診, 日本臨床細胞学会雑誌 32:1112-17, 1993.
- Shigeo Nakamura, Takashi Koshikawa, Sadayuki Kaba, Yoshiro Tokoro, Taizan Suchi, et al., Imprint Cytology of Low-Grade B-Cell lymphoma of Mucosa-Associated Lymphoid Tissue Arising in the Thymus: A Case Report, Diagnostic Cytopathology 9: 665-67, 1993.
- 栗田宗次, 蒲 貞行. 造血器・網内系 (リンパ節) , 「細胞診の基本 下巻 各論」, 田中 昇監修, 武藤化学, 東京, 126-138, 1999.
- Keitaro Matsuo, Ritsuo Suzuki, Nobuyiki Hamajima, Michinori Ogura, Yoshitoyo Kagami, Sadayuki Kaba, et.al. Association between polymorphism of folate-and methionine-metabolizing enzymes and susceptibility to malignant lymphoma, Blood 97(10) : 3205-09, 2001.
- 蒲 貞行. 造血器疾患と鑑別を要する固形癌, 日本検査血液学会雑誌 3: 334-42, 2002.
- 蒲 貞行, 細胞型別にみた細胞診 – リンパ球系細胞の見方 –, Medical Technology : 医歯薬出版, 31 : 595~600, 2003.
- 蒲 貞行, 小島 勝, 杉原志朗, 福田利夫. リンパ節スタンプ標本による反応性病変と悪性リンパ腫の細胞学的鑑別について, 日本検査血液学会雑誌 5:380-90, 2004.
- 蒲 貞行. リンパ節細胞診標本の作製法と観察法, Medical Technology : 医歯薬出版, 33:1279-83, 2005.
- 蒲 貞行. リンパ節スタンプ標本による、反応性病変と非ホジキンリンパ腫の基本的な細胞学的鑑別診断について, The Kitakanto Medical Journal 33:1279-1283, 2005.
- Sadayuki Kaba, Masaru Kojima, Hazuki Matsuda, Shiro Sugihara, Nobuhide Masawa, Tadao K. Kobayashi, Toshio Fukuda, Kuttner's tumor of the submandibular glands: Report of five cases with fine needle aspiration cytology, Diagnostic Cytopathology 34:631-35, 2006.
- Masaru Kojima, Kazuhiko Shimizu, Sadayuki Kaba, Hideaki Itoh, Imprint Cytology Specimen of Toxoplasmic Lymphadenitis Containing Numerous Large Clusters of Monocytoid B-Cells: Two Case Reports, Diagnostic Cytopathology 36:197-98, 2008.
- 蒲 貞行. パパニコロウ染色とメイ・ギムザ染色によるリンパ球系病変の鑑別点, 日本臨床細胞学会大分県支部会誌, 19:1-6, 2009.
- Sadayuki Kaba, Mitsuyoshi Hirokawa, Seiji Kuma, Miyoko Maekawa, Yukari Yanase, Masaru Kojima, Akira Miyauchi. Cytologic findings of primary thyroid MALT lymphoma with extreme plasma cell differentiation: FNA cytology of two cases, Diagnostic Cytopathology 37:815-19, 2009.
- Masaru Kojima, Naoya Nakamura, Hazuki Matsuda, Sadayuki Kaba, Hideaki Itoh, Nobuhide Masawa. HIV-unrelated benign lymphoepithelial cyst of the parotid glands containing lymphoepithelial lesion-like structures: A case report of 2 cases, International journal of surgical pathology 17:421-425, 2009.
- Kojima M, Nakamura N, Shimizu K, Segawa A, Kaba S, Masawa N. MALT type lymphoma demonstrating prominent plasma cell differentiation resembling fibrous variant of Hashimoto's thyroiditis. A three case report. Pathol oncol Res., 15:285-89, 2009.
- 蒲 貞行, 所 嘉朗, 鈴木 緑, 小林雅子, 尾関順子, 土田 秀, 小島 勝, 越川 卓, 谷田部 恭. リンパ節穿刺細胞診における精度管理、特に検体不適正率の改善に向けて, 日本臨床細胞学会雑誌, 49:437-42, 2010.
- S. Kaba, Y. Tokoro, K. Washiya, T. Tokairin, I. Ono, S. Tsuchida, M. Kojima, T. Koshikawa. Cytology of pulmonary marginal zone B-cell lymphoma of MALT type, lessons learned for intra-operative diagnosis, Cytopathology, 22:346-351, 2011.
- 蒲 貞行, 廣川満良, 延岡由梨, 樋口観世子, 山尾直輝, 鈴木彩菜, 高木 希, 小島 勝, 宮内 昭. 「甲状腺原発MALTリンパ腫のリンパ濾胞胚中心浸潤由来を示唆する山脈状集塊の細胞所見とその意義」 日本臨床細胞学会雑誌 52:428-436, 2013.
- 蒲 貞行, 廣川満良, 延岡由梨, 樋口観世子, 山尾直輝, 鈴木彩菜, 高木 希, 小島 勝, 宮内 昭. 「甲状腺原発での著しく形質細胞への分化を示すMALTリンパ腫の穿刺細胞所見: 7症例」 日本臨床細胞学会雑誌 52:507-517, 2013.
- Sadayuki Kaba, Mitsuyoshi Hirokawa, Miyoko Higuchi, Ayana Suzuki, Masaru Kojima, Akira Miyauchi: Cytological Findings for the Diagnosis of Primary Thyroid Mucosa-Associated Lymphoid Tissue Lymphoma by Fine Needle Aspiration. Acta Cytologica 59:26-36, 2015.
- 蒲 貞行, 船本康申. リンパ節の細胞診. 西 国広編著: 細胞診のすすめ方 第1版 (2001), 第2版(2007), 近代出版, 東京.
- 蒲 貞行, 佐藤康晴. リンパ節の細胞診. 西 国広編著: 細胞診のすすめ方 第3版 (2012), 第4版(2018 印刷中), 近代出版, 東京.

While we are alive, everything is learning about life phenomena every day, and we should improve our own lives through it. Sadayuki Kaba, Ph.D., CF/AC 444