

子宮頸部扁平上皮系腫瘍におけるコイロサイトーシスとそれに伴う核形態異常はLSIL/CIN1の鑑別診断に有用か？

清徳美玖*, 則松良明*, 神岡絵理**, 山本紗椰**,
入野了士***, 祇園由佳*, 原田美香*, 細川翔*, 西川武****, 前田宣延*****

Is Koilocytosis and Associated Nuclear Atypia in Cervical Squamous Epithelial Neoplasia Useful for the Differential Diagnosis of LSIL/CIN1?

Miku SEITOKU*, Yoshiaki NORIMATSU*, Eri KAMIOKA**,
Saya YAMAMOTO**, Satoshi IRINO***, Yuka GION*,
Mika HARADA*, Sho HOSOKAWA*, Takeshi NISHIKAWA****,
Yoshinobu MAEDA*****

Abstract

The histologic diagnosis of cervical squamous epithelial neoplasia is classified into two categories: squamous intraepithelial lesion (SIL)/ cervical intraepithelial neoplasia (CIN) and invasive squamous cell carcinoma (SCC). SIL is further classified as either low-grade (LSIL)/CIN1 or high-grade (HSIL)/CIN2 or 3. LSIL/CIN1 indicates cellular changes due to a transient human papillomavirus infection, whereas HSIL/CIN2 or 3 is considered a true precancerous lesion. This study examined whether koilocytosis and associated variable nuclear atypia—including irregular nuclei, multinucleation, and smudged chromatin—could serve as useful diagnostic findings in LSIL/CIN1 compared with HSIL /CIN3 and SCC. The frequency of cellular morphological atypia, including koilocytosis and nuclear atypia, was significantly higher in LSIL than in other lesions. Furthermore, in LSIL/CIN1 cases, the frequency of irregular nuclei with koilocytosis was significantly higher than that of irregular nuclei without koilocytosis. These results confirm that koilocytosis and associated variable nuclear atypia are important diagnostic characteristics of LSIL/CIN1.

Keywords: 子宮頸部扁平上皮系腫瘍 コイロサイトーシス 核形態異常 LSIL/CIN1 鑑別診断

序 文

子宮頸癌取扱い規約第5版¹⁾において、扁平上皮系腫瘍は扁平上皮内病変(squamous intraepithelial lesions:SIL)と浸潤性扁平上皮癌(invasive squamous cell carcinoma: SCC)に大別され、SILはさらに、軽度扁平上皮内病変(Low-grade SIL:LSIL)/子宮頸部上皮内腫瘍1(Cervical intraepithelial neoplasia: CIN1)と高度扁平上皮内病変(High-grade SIL: HSIL)/子宮頸部上皮内腫瘍2または3(CIN2 or 3)に分類される。LSILはヒトパピローマウイルス(Human papillomavirus: HPV)の一過性感染による細胞変化を示すのに対し、HSILは真の前癌病変を示す診断カテゴリーとして位置づけられる。

LSIL/CIN1に特徴的な組織細胞学的所見として、コイロサイトーシスが知られている。これは、核周囲に広く空洞状に明るく抜けた細胞質空胞化(核周囲明庭)を認める所見であり、加えて核腫大、大小不同、核形不整、濃染する無構造核などの多様な核異型を伴う¹⁾。コイロサイトーシスは重層扁平上皮粘膜の表層側でHPV感染による細胞障害に起因し、LSIL/CIN1診断にほぼ必須とされる。

しかし、LSIL/CIN1におけるコイロサイトーシスおよびそれに伴う核異型が、HSIL/CIN2 or 3やSCCなど他の病変と比較して診断上、有用な鑑別点となり得るかについては、十分に検証されていない。そこで本研究では、各病変における細胞形態異常の特徴を明らかにするため、細胞1つ1つの形態を詳細に観察し比較検討を行った。

*愛媛県立医療技術大学大学院保健医療学研究科医療技術専攻 **愛媛県立医療技術大学保健科学部臨床検査学科
愛媛県立医療技術大学大学院保健医療学研究科看護学専攻 *天理大学医療学部臨床検査学科
*****富山赤十字病院病理診断科

方 法

1. 対象および組織診断

本研究は、富山赤十字病院で2020年4月から2023年12月の期間において、子宮頸部生検および円錐切除より得られた組織検体でのヘマトキシリン・エオジン(Hematoxylin-Eosin: HE)標本は、子宮頸癌取扱い規約第5版¹⁾に従って分類した。その内訳は、LSIL/CIN1と診断された11例(平均年齢37.2歳, 23~56歳), HSIL/CIN3と診断された8例(平均年齢45.1歳, 29~61歳), SCCと診断された11例(平均年齢62.3歳, 35~82歳), 子宮筋腫などの非腫瘍性病変と診断された8例(平均年齢52.6歳, 36~71歳)を対象とした。なお、本検討ではHSIL/CIN2について、LSIL/CIN1やHSIL/CIN3との中間に位置する不明瞭なカテゴリーであることが指摘されており¹²⁾、鑑別が困難な場合があるため、除外した。

本研究は愛媛県立医療技術大学研究倫理審査委員会(承認番号24-010)および富山赤十字病院倫理委員会(第374番)の承認を得て実施した。

2. 検討項目

1)各病変における細胞形態異常の出現頻度

それぞれの病変のHE標本について、各病変の扁平上皮粘膜層において、任意に5か所について、基底層から表層における粘膜層全層を選択し、対物40倍にて、写真撮影した。その後、細胞形態異常所見を評価した。任意に選択した扁平上皮粘膜層が対物40倍の範囲に収まらない場合は、同じ場所の粘膜層の基底層から中層、表層に沿って、2, 3か所、写真撮影し、細胞形態異常所見を評価した。細胞形態異常の所見は子宮頸癌取扱い規約第5版¹⁾に基づき、核の形態異常所見として、①核形不整、②多核、③スマッジ状クロマチンについて、また、細胞質の形態異常所見として、④コイロサイトーシスについて対物40倍で観察し、それぞれの項目に分類した。次に、各項目について、症例ごとに出現頻度を算出した。

なお、核や細胞質の形態異常は次のように定義した。核形不整とは、正常細胞の核は円形や類円形で核膜辺縁が円滑であるのに対し、核形の歪み(顕微鏡の焦点を変えると核の形状見が連続的に変化する)、しわ/溝(核内に線状に見られるしわまたは切れ込み)、核膜辺縁の不整(切れ込み、凹凸不整、不均等肥厚)を認めるものとした。多核とは2核以上の核を有する細胞とした。スマッジ状クロマチンとは、正常細胞では微細顆粒状のクロマチンが均等に分布しているのに対し、クロマチンが融解状無構造に濃染する状態とした。コイロサイトーシスは、核周囲に広く明庭様(空洞状)に明るく抜けた細胞質を持つものとした。

2) LSIL症例におけるコイロサイトーシスの有無別における核形不整の出現頻度

検討1において、症例毎に任意に選択した扁平上皮粘膜全層、基底層から表層までの計数した細胞において、コイロサイトーシスを認める細胞で核形不整が観察される細胞の

出現頻度と、コイロサイトーシスを認めない細胞で核形不整が観察される出現細胞の頻度を算出し、比較した。

3. 統計学的解析

統計学的有意差の検討は、統計解析ソフトSPSS Statistics 29(日本アイ・ビー・エム株式会社)を用いた。各病変における細胞形態異常の出現頻度の比較には、Kruskal-Wallis testを行い、有意差を認めた場合にはDunn-Bonferroni testによる多重比較を行った。また、核形不整とコイロサイトの有無における出現頻度の比較には、Mann-Whitney U testによる比較を行った。p値が0.01未満を統計的に有意とみなした。

結 果

1. 各病変における細胞形態異常の出現頻度(表1)

LSIL/CIN1(図1~3)では、11例中2461個の細胞を評価の対象とし、細胞形態異常所見別での出現頻度(形態別頻度)を算出した。その結果、核形不整は中央値23.0%(四分位範囲 16.0-37.9%)、同様に多核は2.3%(0.3-4.4%)、スマッジ状クロマチンは2.8%(0.5-8.2%)、コイロサイトーシスは42.5%(26.5-50.2%)であった。HSIL/CIN3(図4)では、8例中3412個の細胞を評価の対象とし、出現頻度の中央値はそれぞれ、核形不整は3.4%(四分位範囲 2.1-10.9%)、同様に多核、スマッジ状クロマチン、コイロサイトーシスは各々0.0%(0.0-0.0%)であった。SCC(図5)では、11例中3534個の細胞を評価の対象とし、核形不整は中央値2.9%(四分位範囲 1.8-8.5%)、同様に多核、スマッジ状クロマチン、コイロサイトーシスは各々0.0%(0.0-0.0%)であった。非腫瘍性病変(図6)では、8例中1570個の細胞を評価の対象とし、核形不整は中央値3.2%(四分位範囲 0.9-5.3%)、同様に多核、スマッジ状クロマチン、コイロサイトーシスは各々0.0%(0.0-0.0%)であった。

核形不整の出現頻度は、LSIL/CIN1ではHSIL/CIN3、SCC、非腫瘍性病変と比較して、それぞれ有意に高値を示した。多核の出現頻度において、LSIL/CIN1ではHSIL/CIN3、SCC、非腫瘍性病変と比較して、それぞれ有意に高値を示した。スマッジ状クロマチンの出現頻度は、LSIL/CIN1ではHSIL/CIN3、SCC、非腫瘍性病変と比較して、それぞれ有意に高値を示した。コイロサイトーシスの出現頻度は、LSIL/CIN1ではHSIL/CIN3、SCC、非腫瘍性病変と比較して、それぞれ有意に高値を示した。

2. LSIL症例における核形不整とコイロサイトーシスの有無における出現頻度(表2)

LSIL/CIN1 11例中2461個の細胞を計数の対象とし、核形不整とコイロサイトーシスの有無における出現頻度を算出した。その結果、核形不整の出現頻度はコイロサイトーシスあり症例では中央値37.7%(四分位範囲 31.1-55.7%)であり、コイロサイトーシスなし症例では、10.2%(5.3-17.4%)で、前者は後者よりも有意に高値を示した。

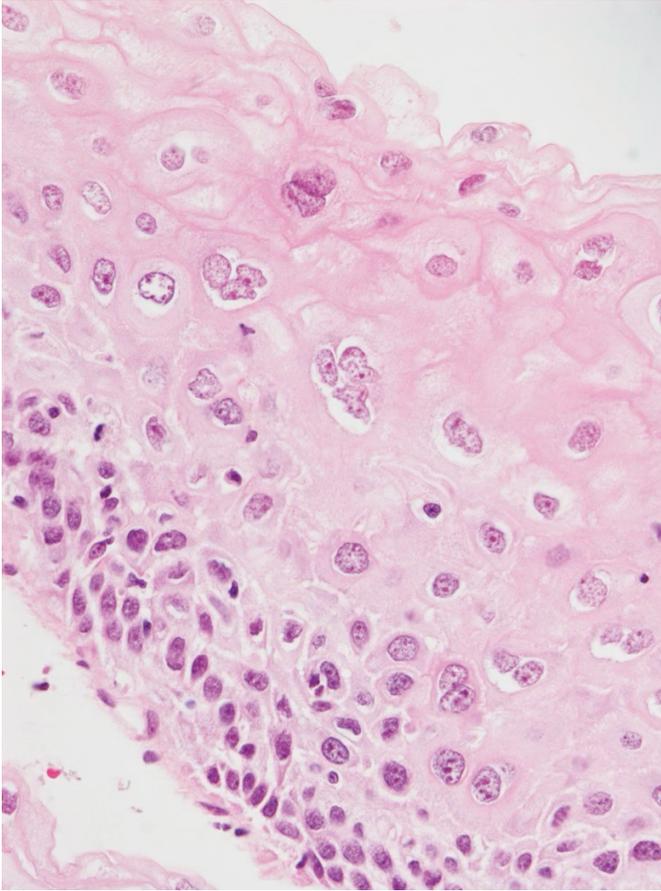


図1 LSIL/CIN1

扁平上皮粘膜の中層および表層ではコイロサイトーシスとともに、核の腫大、大小不同、核形不整、多核がみられる。一方で、基底側では軽度の核腫大がみられる程度で、核形不整を認めない。(HE染色、倍率:×400)

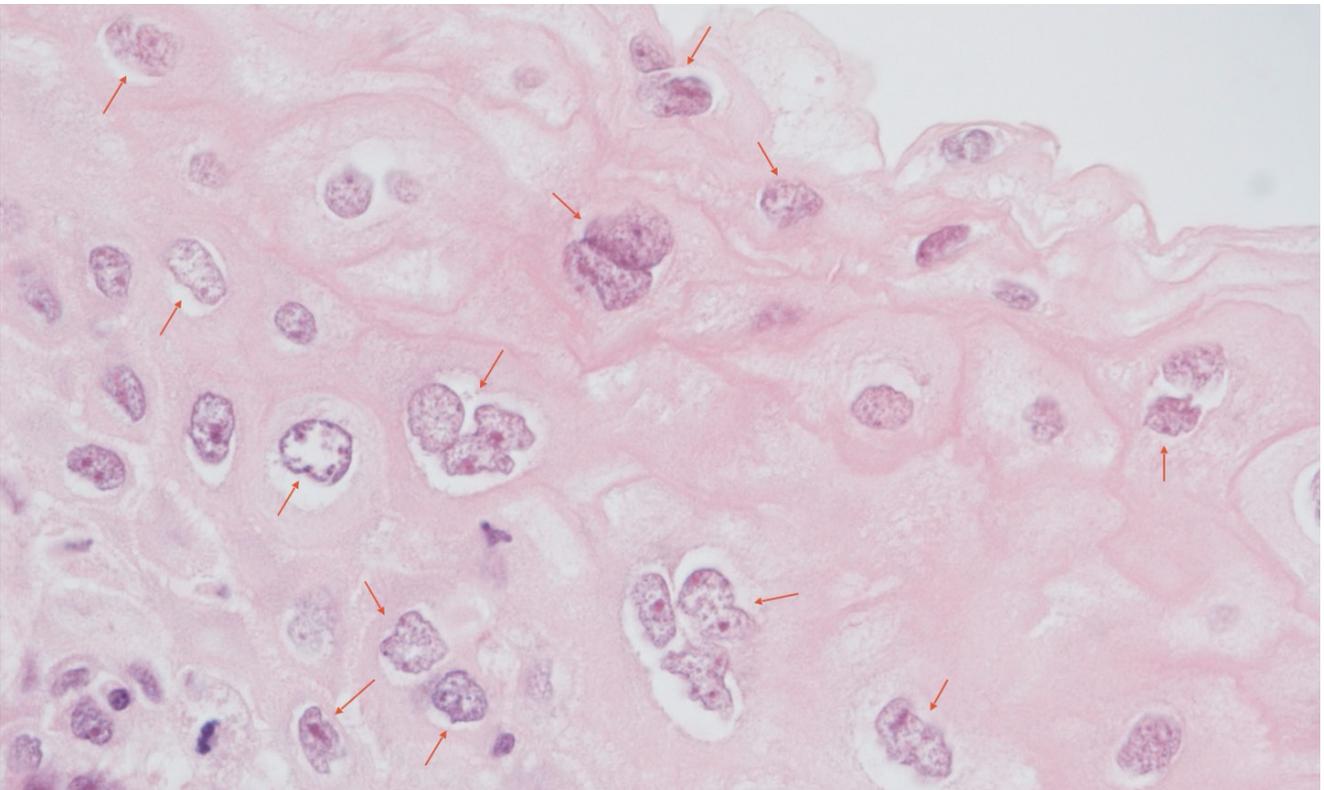


図2. LSIL/CIN1

図1における扁平上皮粘膜の中層から表層の拡大図である。多くの細胞にコイロサイトーシスとともに、核異型細胞(核腫大、核形不整、多核)を認める(赤色矢印)。(HE染色、倍率:×600)

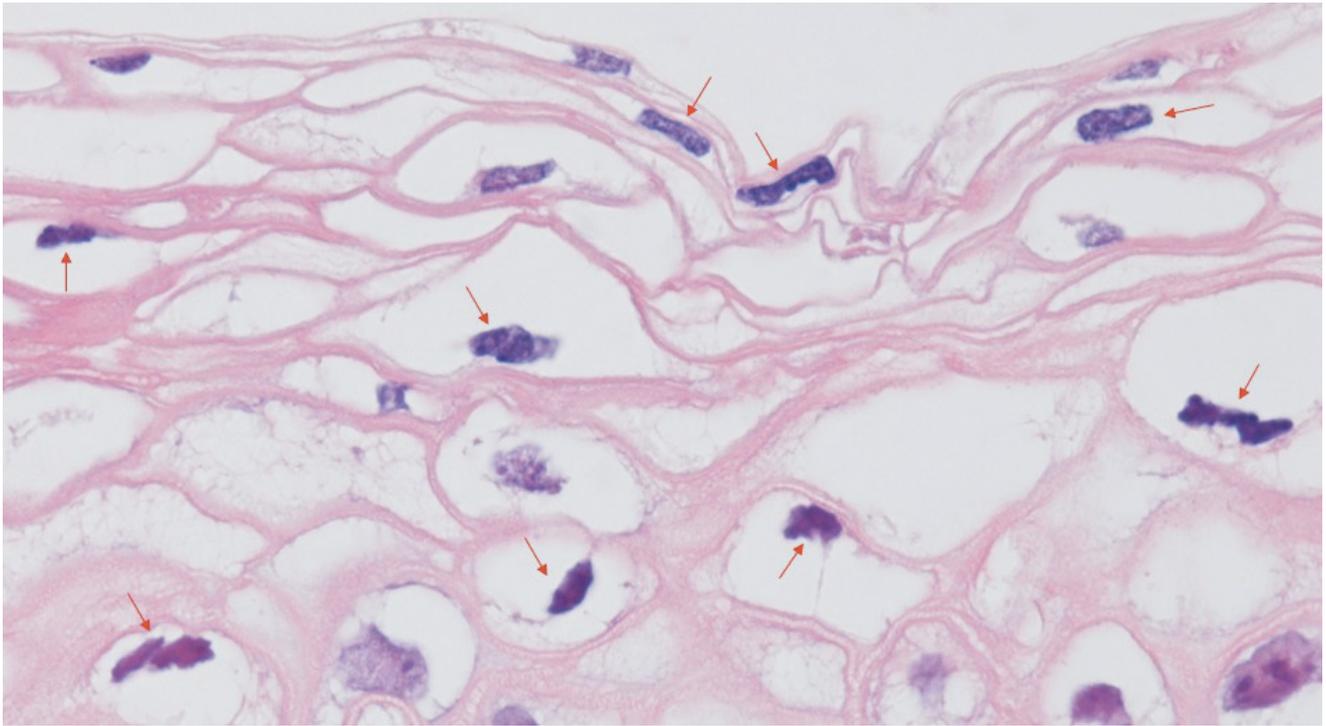


図3 LSIL/CIN1

扁平上皮粘膜の表層でコイロサイトーシスとともに、クロマチンが融解状無構造に濃染する、スマッジ状クロマチンを認める(赤色矢印)。(HE染色, 倍率:×600)

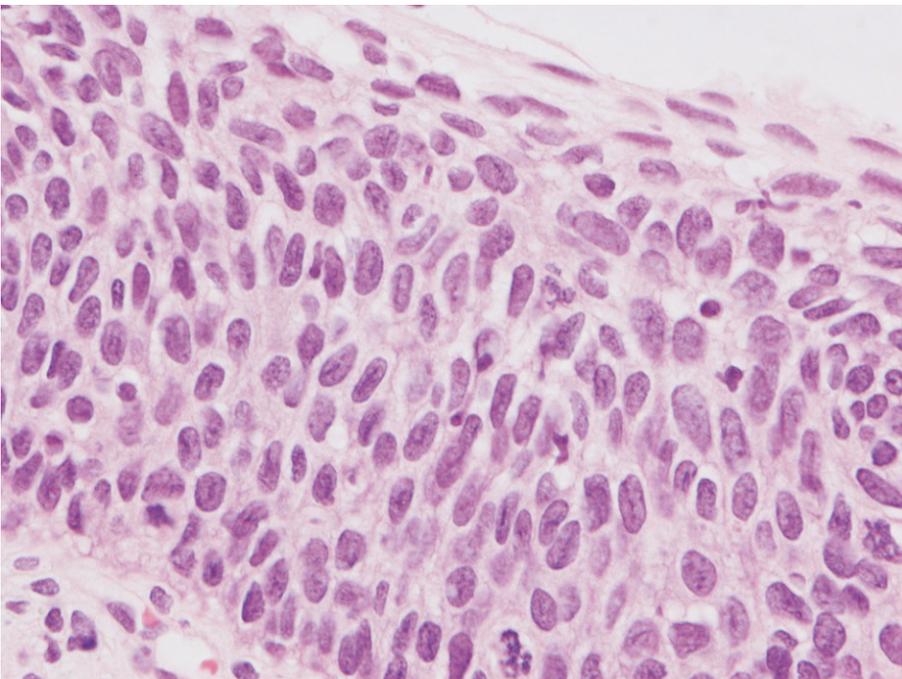


図4 HSIL/CIN3

扁平上皮粘膜の基底側2/3を超える範囲で基底/傍基底様異型細胞の増殖を示し、核・細胞質比が高く、核の極性/配列の乱れ、核の大小不同、クロマチンの増量を認める。一方で、核形不整は少ない。(HE染色, 倍率:×400)

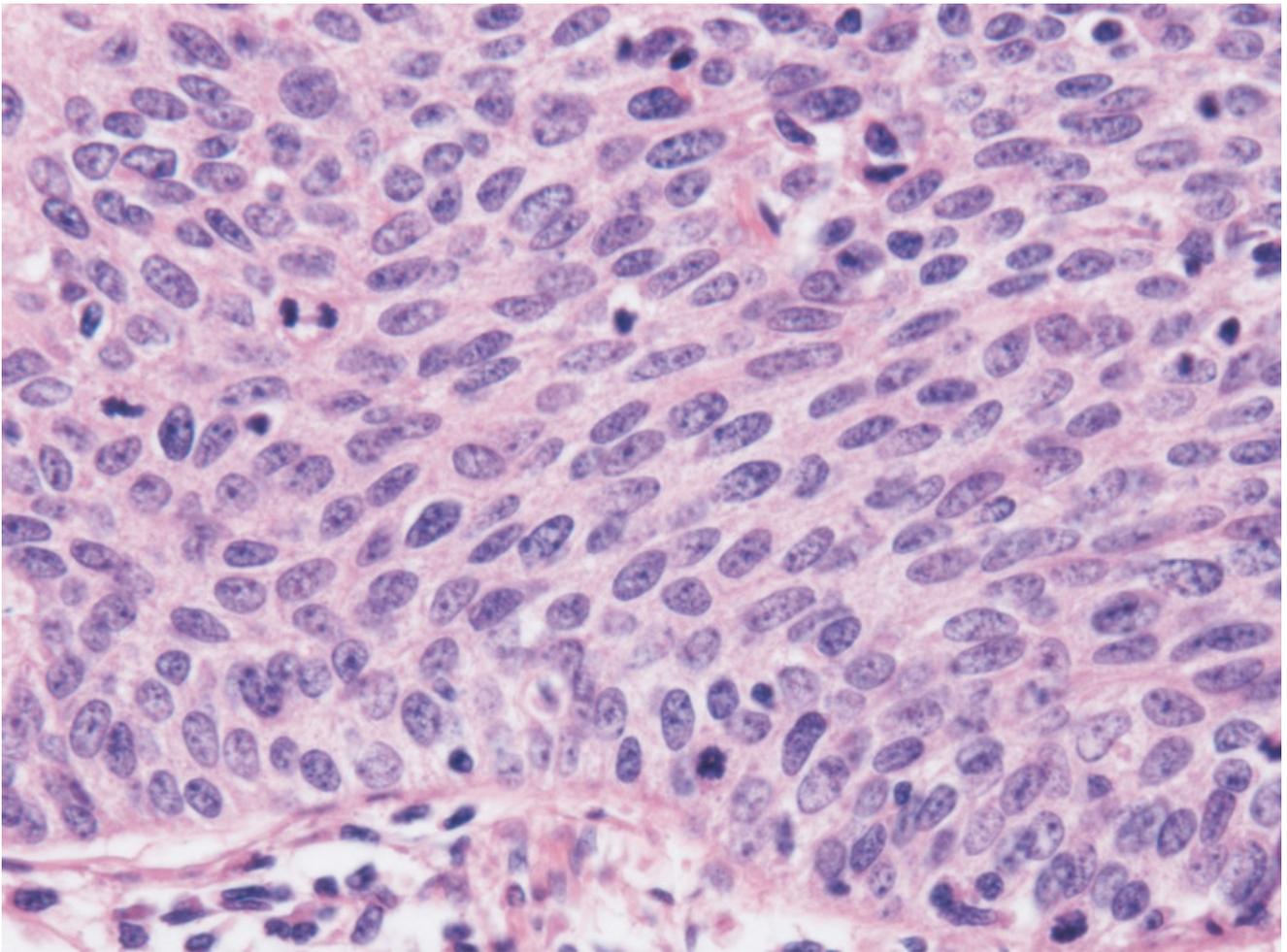


図5 SCC

腫瘍細胞はHSIL/CIN3を構成する核・細胞質比の高い基底/傍基底様異型細胞に一見、類似しているが、増量したクロマチンは粗顆粒状不均等分布し、核小体が著明なものも見られる。また、多数の核分裂像を認める。一方で、核形不整は少ない。(HE染色、倍率:×400)

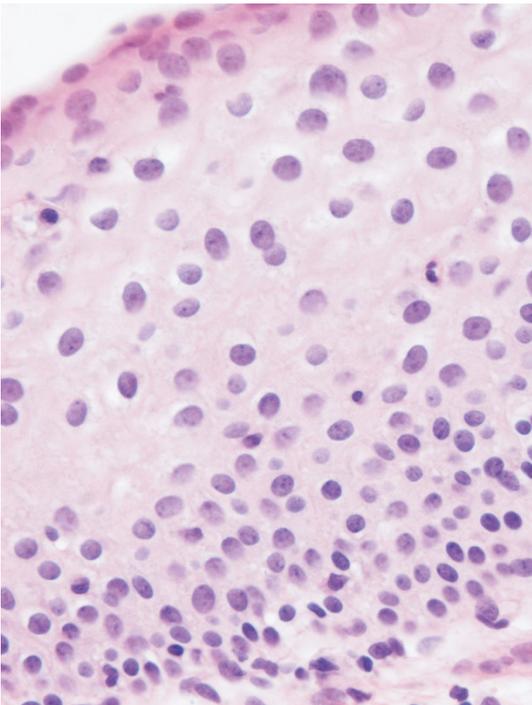


図6 非腫瘍性病変(扁平上皮化生)

中等度成熟と層形成を示す扁平上皮化生組織である。扁平上皮粘膜の全層において細胞核は卵円～類円形を示し、核形不整やクロマチンの増量、コイロサイトーシスなどの細胞異型を認めない。(HE染色、倍率:×400)

表1. 各病変における細胞形態異常の出現頻度(%)

細胞形態異常所見 病変(計数した細胞数)		核			細胞質
		核形不整	多核	スマッジ状 クロマチン	コイロサイト ーシス
LSIL/CIN1 (11例-2461個)	中央値	23.0	2.3	2.8	42.5
	四分位範囲	16.0-37.9	0.3-4.4	0.5-8.2	26.5-50.2
HSIL/CIN3 (8例-3412個)	中央値	3.4	0.0	0.0	0.0
	四分位範囲	2.1-10.9	0.0-0.0	0.0-0.0	0.0-0.0
SCC (11例-3534個)	中央値	2.9	0.0	0.0	0.0
	四分位範囲	1.8-8.5	0.0-0.0	0.0-0.0	0.0-0.0
非腫瘍性病変 (8例-1570個)	中央値	3.2	0.0	0.0	0.0
	四分位範囲	0.9-5.3	0.0-0.0	0.0-0.0	0.0-0.0

核形不整	LSIL vs. 非腫瘍性病変	$p < 0.001$	多核	LSIL vs. 非腫瘍性病変	$p < 0.001$
	LSIL vs. HSIL	$p = 0.008$		LSIL vs. HSIL	$p = 0.004$
	LSIL vs. SCC	$p = 0.001$		LSIL vs. SCC	$p < 0.001$
	HSIL vs. SCC	$p = 1.000$		HSIL vs. SCC	$p = 1.000$
	HSIL vs. 非腫瘍性病変	$p = 1.000$		HSIL vs. 非腫瘍性病変	$p = 1.000$
	SCC vs. 非腫瘍性病変	$p = 1.000$		SCC vs. 非腫瘍性病変	$p = 1.000$

スマッジ状 クロマチン	LSIL vs. 非腫瘍性病変	$p = 0.001$	コイロサイ トーシス	LSIL vs. 非腫瘍性病変	$p < 0.001$
	LSIL vs. HSIL	$p = 0.001$		LSIL vs. HSIL	$p < 0.001$
	LSIL vs. SCC	$p < 0.001$		LSIL vs. SCC	$p < 0.001$
	HSIL vs. SCC	$p = 1.000$		HSIL vs. SCC	$p = 1.000$
	HSIL vs. 非腫瘍性病変	$p = 1.000$		HSIL vs. 非腫瘍性病変	$p = 1.000$
	SCC vs. 非腫瘍性病変	$p = 1.000$		SCC vs. 非腫瘍性病変	$p = 1.000$

各病変間における各細胞形態異常の出現頻度における有意差検定について、Kruskal-Wallis testを行った結果、有意差 ($p < 0.001$) を認めため、Dunn-Bonferroni testによる多重比較を行った ($p < 0.01$ を有意とした)。

表2. LSIL症例におけるコイロサイトーシスの有無別における核形不整の出現頻度(%)

核形不整(%)	コイロサイトーシスあり	コイロサイトーシスなし	p 値
中央値	37.7	10.2	$p < 0.001$
四分位範囲	31.1-55.7	5.3-17.4	

Mann-Whitney U test ($p < 0.01$ を有意とした)

考 察

本検討では、LSIL/CIN1に認められるコイロサイトーシスおよび核形不整を含む核形態異常が、HSIL/CIN3やSCCと比較して特徴的であるのか否か、組織中の個々の細胞を観察し、各病変間での比較検討を行った(表1)。

子宮頸癌取り扱い規約⁴⁾やWHO(World Health Organization)分類⁵⁾での組織学的診断基準において、LSIL/CIN1は扁平上皮粘膜層の下1/3が軽度の核腫大を伴う基底/傍基底様異型細胞の増殖を示し、その上側2/3は中～表層細胞への分化(成熟)を示すと定義されている。多くの細胞において、コイロサイトーシス、核腫大、核形不整、スマッジ状クロマチンと多核化が認められ、特にコイロサイトーシスは扁平上皮粘膜層の上側1/3に顕著であるが、より深部まで及ぶこともあるとされ、本研究でも同様の組織像を呈した(図1～3)。一方、HSIL/CIN3では扁平上皮粘膜のほぼ全層に基底/傍基底様異型細胞の増殖を示し、核・細胞質比が高く、核の極性/配列の乱れ、核の大小不同や多形性、核形不整を認め、全層に渡り有糸分裂が見られるとされている(図4)。SCCでは核・細胞質比が高く、核の極性/配列の乱れ、核の大小不同や多形性、核形不整、顕著な核小体、壊死、角化などを認めるとされる(図5)。

上述の組織学的診断基準より、LSIL/CIN1ではHSIL/CIN3やSCCに比べ、コイロサイトーシスが特徴的所見であることがわかる。本検討でも、コイロサイトーシスの出現はHSIL/CIN3、SCCおよび非腫瘍性病変では認められなかったのに対し、LSIL/CIN1では42.5%と有意に高頻度であったことより、コイロサイトーシスの出現はLSIL/CIN1の特徴的所見であることが確認された。

LSIL/CIN1とHSIL/CIN3およびSCCの病態の違いとして、前者はHPV感染によるウイルス粒子複製状態であるのに対し、後者はHPVのウイルスDNAの宿主ゲノムへの組込みと細胞の不死化に起因する腫瘍性変化であり、病態が異なることが知られている⁴⁾。Kamal⁵⁾はHPV感染の指標としてコイロサイトーシス変化が重要であり、これを認めない場合、再現性のあるLSIL/CIN1診断は困難であると指摘している。また、九島ら⁶⁾もコイロサイトーシスは正常上皮とHPV感染上皮の鑑別、さらにはHSILとLSILの鑑別に重要な所見であると述べている。

一方、上述の組織学的診断基準^{1,2)}において、核形不整はLSIL/CIN1、HSIL/CIN3およびSCCのいずれも所見として認められると記載されていた。しかしながら、本検討結果から、LSIL/CIN1で23.0%、HSIL/CIN3で3.4%、SCCは2.9%、非腫瘍性病変では3.2%とすべての病変で核形不整は認められたが、HSIL/CIN3とSCCでは有意に低頻度であることが明らかになった。また、多核およびスマッジ状クロマチンはLSIL/CIN1でそれぞれ2.3%、2.8%と低頻度ではあったが、他病変では認められなかった。それらのことより、核形態異常(核形不整、多核およびスマッジ状クロマチン)の所見もコイロサイトーシスと同様に、LSIL/CIN1での特徴的所見であると考えられた。

Kamal⁵⁾はコイロサイトーシスの形態学的特徴として核周囲明

庭に加え、核腫大、不規則にしわのある核膜、多核などを挙げており、九島ら⁶⁾もLSIL/CIN1症例の65.5%(19/29例)にコイロサイトーシスを認め、それらの細胞に核形不整、スマッジ状クロマチン、二核から多核の細胞をしばしば伴うと報告している。

上述のことから、われわれは、LSIL/CIN1における核形不整とコイロサイトーシスの有無による比較を行った。その結果、核形不整の出現頻度の中央値はコイロサイトーシスあり症例では37.7%で、コイロサイトーシスなし症例の10.2%よりも有意に高頻度であることが示された(表2)。この結果はこれらKamalや九島らの先行研究と一致しており、LSIL/CIN1におけるコイロサイトーシスと、それに伴う多様な核形態異常が、この病変を特徴づける重要所見であることが確認された。

結 語

今回の検討結果から、コイロサイトーシスとそれに伴う核形態異常がHSIL/CIN3やSCCとの鑑別診断上、極めて有用な所見であることが示された。今後は、細胞診標本においても同様の検討を行い、各病変における細胞形態異常の頻度と特徴を比較検討することで、LSIL/CIN1判定の精度向上に寄与すると期待される。

引 用 文 献

- 1) 子宮頸癌取り扱い規約, 第5版(2022): 上皮性腫瘍. A扁平上皮病変および前駆病変.日本産科婦人科・日本病理学会編, 30-38, 金原出版.
- 2) Carreon JD, Sherman ME, Guillén D, et al. (2007): CIN2 is a much less reproducible and less valid diagnosis than CIN3: results from a histological review of population-based cervical samples. *Int J Gynecol Pathol*, 26:441-446.
- 3) Herrington CS. (2020): Tumor of the uterine cervix. WHO Classification of Tumours·5th edition Female Genital Tumours. WHO Classification of Tumours Editorial Board (eds), 335-389, WORLD HEALTH ORGANIZATION.
- 4) 神田忠仁, 柊元巖(2006): ヒトパピローマウイルスと子宮頸癌. 特集 ウイルスと発癌. *ウイルス*, 56, 219-230.
- 5) Kamal M(2022): Cervical Pre-cancers: Biopsy and Immunohistochemistry. *Cytojournal*, 19, 38.
- 6) 九島巳樹, 津田祥子, 森下朱美, 他(2012): コイロサイトーシスについて. *日臨細胞誌*, 51, 49-52.

要 旨

子宮頸部扁平上皮系腫瘍の組織診断は扁平上皮内病変(SIL) /子宮頸部上皮内腫瘍(CIN)と浸潤性扁平上皮癌(SCC)に大別され, SILはさらに, Low-grade (LSIL)/CIN1と High-grade (HSIL)/CIN2または3に細分類される。LSIL/CIN1はヒトパピローマウイルスの一過性感染による細胞変化を示すのに対し, HSIL/CIN2または3は真の前癌病変として位置づけられる。本検討において, LSIL/CIN1でのコイロサイトーシスとそれに伴う核異型(核形不整, 多核, スマッジ状クロマチン)が, HSIL/CIN3やSCCと比較して診断上, 有用な所見となり得るか検証した。その結果, 細胞形態異常の出現頻度において, コイロサイトーシスおよび核異型の全ての項目でLSILは他病変よりも有意に高頻度を示した。また, LSIL/CIN1 症例での核形不整の出現頻度は, コイロサイトーシスあり症例ではコイロサイトーシスなし症例よりも有意に高頻度を示した。以上のことより, LSIL/CIN1におけるコイロサイトーシスとそれに伴う多様な核形態異常が, この病変を特徴づける重要所見であることが確認された。

利 益 相 反

本研究に開示すべき利益相反はない。