

超音波下細径針生検肝細胞癌組織の電顕的観察

—再生結節および腺腫様過形成との比較—

末宗 康宏

肝細胞癌 (HCC) が疑われた肝硬変患者に超音波下細径針肝組織生検を施行し、37例より採取された再生結節 (RN)、腺腫様過形成 (AH)、HCC の組織を電顕的に観察して HCC の診断に関する臨床病理学的検討を行った。lateral surface (LS) の微絨毛突起は、RN では増生し、AH、HCC では減少する傾向があった。LS における細胞間隙 (ICS) の幅と面積を計測すると、RN、AH、HCC の順で幅、面積ともに有意な狭小化を示した。Edmondson 分類の Grade-I ~ II 型の HCC 群と II および III 型群を比較すると面積に差はなかったが、幅は II および III 型群で有意に減少していた。超音波検査で被膜所見を有する HCC では、なかった例より幅、面積ともに有意な狭小化を示した。ICS の狭小化は、周囲細胞組織を圧排しながら増殖する HCC の膨脹性発育と被膜の存在に関連していると推察された。RN と AH の鑑別診断あるいは高分化型 HCC の診断には、ICS の狭小化が重要な所見と考えられた。

(平成2年10月26日採用)

Ultrastructural Study of Human Hepatocellular Carcinoma by Ultrasound-Guided Fine Needle Biopsy —Comparison of Regenerative Nodule and Adenomatous Hyperplasia—

Yasuhiro Suemune

Ultrasound-guided fine needle liver biopsy was performed in liver cirrhotic patients suspected of hepatocellular carcinoma (HCC). Biopsy tissues of regenerative nodule (RN), adenomatous hyperplasia (AH) and HCC were obtained from 37 cases and observed with electron microscope.

The width and the area of the intercellular spaces (ICSs) were measured in RN, AH and HCC respectively and compared each other. Both width and area were found significantly narrow and small in size in RN, AH and HCC in the decreasing order of width and size. In HCC cases with capsules seen by ultrasonography, the width and the area of the ICSs were found significantly narrower and smaller in size, when compared with the cases without capsule. These results indicate that the small ICSs are related to the existence of the capsule and the expansive growth of HCC which proliferate by excluding the adjacent cellular tissue. On differential diagnosis of RN, AH and well-differentiated HCC, it is useful to observe the reduction in size of the ICSs. (Accepted on October 26, 1990) *Kawasaki Igakkaishi* 16 (3・4): 235-247, 1990

Key Words ① Hepatocellular carcinoma ② Adenomatous hyperplasia

③ Electron microscopy

④ Fine needle biopsy

緒 言

肝の超音波検査(以下US)は細小肝癌を含む肝内の小結節性病変の検出を可能にしたが、直径2 cm以下の小病変では他の画像検査を駆使しても質的診断は困難なことが多い。その確定診断は組織診断によらなければならず、細径針を用いた超音波下組織生検法(以下細径針生検)が開発された。^{1), 2)}しかし細径針生検によっても肝細胞癌(以下HCC)の診断が困難な場合がある。

早期の微小なHCC、特に腫瘍径が1 cm前後のものは細胞異型も構造異型もともに乏しい極めて高分化な腫瘍組織像を呈することが多い。一方、HCCの手術切除例や剖検例で発見される腺腫様過形成(adenomatous hyperplasia, 以下AH)と称される小結節性病変がある。AHはHCCの境界病変あるいは前癌病変として認識されている³⁾が、その診断基準はまだ確立されてはいない。細径針生検が普及し肝内の小結節性病変の生検が可能になった現在では、高分化な組織像を呈するHCCとAHとの鑑別が重要な問題となっている。

肝内小結節性病変の細径針生検組織を超微形態学的に観察した報告^{4), 5)}はまだ少なく同生検で得られた肝の結節性病変を透過型電子顕微鏡(以下透過電顕)で観察しHCCの診断に関する臨床病理学的な検討を行った。

対 象 と 方 法

1. 対 象

対象は腹部USで肝細胞癌が疑われ、細径針生検を施行した72例中、電顕用組織まで得られた37例である。その内訳は男性22名、女性15名、平均年齢61.7歳で、全例に肝硬変が併存していた。US上の腫瘍径は、7~53 mmであった。

2. 方 法

1) 組織採取

21GのMajima needleとTOP社製細径針組織生検セットを用いた。真島らの方法²⁾に従い、超音波下に病変部を経皮的に穿刺吸引して組織を採取した。超音波装置は、ALOKA SSD 125 (3.5, 5.0, 7.5 MHz)を用いた。

2) 形態学的観察

採取した組織の大部分は10%ホルマリンで固定し型のごとく脱水、パラフィンに包埋後、薄切しヘマトキシリン・エオジン(HE)染色、Azan染色、鍍銀法を行い光学顕微鏡(以下光顕)的に観察した。組織の一部を電顕標本としたが、電顕用の組織片は約0.6×0.6×1~2 mmと微小なため、2.5%グルタルアルデヒドと1%オスミウム酸の固定時間はそれぞれ30分間にした。エタノール系列にて脱水後、Epon 812に包埋した。樹脂ブロックを超ミクロトームで薄切して厚さ約1 μmの切片を作製し、トルイジンブルー染色を行い、光顕的に病変部位を確認した。HE染色した組織標本とトルイジンブルー染色した標本とを厳密に比較観察して、同一病変であることが疑わしい場合は対象外とした。超薄切後、酢酸ウラニルとクエン酸鉛で二重染色してJEM-100S透過型電子顕微鏡で観察した。

3) 組織診断

診断は主としてHE染色した組織標本で行い、鍍銀法を参考にした。HCCの診断は原発性肝癌取扱い規約⁶⁾に準拠し、細胞異型度はEdmondson-Steiner(以下Ed)分類に従ったが、I型を主体としII型を一部混ざる程度のもはI~II型とした。AHは、同時に採取できた非病変部の肝細胞に比し細胞が小型化し細胞密度はやや高いが、核/胞体比の増加や細胞異型は軽度であり、偽腺管構造の出現、索状配列の断裂など明らかな構造異型に乏しく、癌あるいは再生結節(regenerative nodule, 以下RN)と診断できな

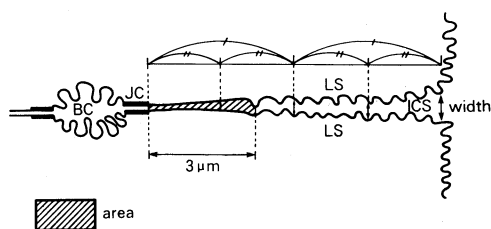


Fig. 1. Schematic explanation on the geometrical measurements of the intercellular spaces at the lateral surface BC: bile canaliculus, JC: junctional complex, LS: lateral surface, ICS: intercellular space

かった病変とした。

4) 細胞間隙 (幅, 面積) の計測

細胞間隙の幅は lateral surface (以下 LS) 間を計測部位とし, 6,000~12,000倍率の電顕写真面上で隣接する細胞膜が明瞭なものを無作為に選び, スケール・ルーペを用い計測した。一つの間隙について中央, 両端およびそれから中央までの中間点の計5カ所の幅を計測した (Fig. 1)。1症例ごとに, 30~50の細胞間隙を計測した。細胞間隙の面積については, KONAN社製 Cell Analyser Systemを用い, 無作為に選んだ6,000~12,000倍率の電顕写真面上を直接トレースして細胞間隙面積を定量的に解析した。測定部位は, 毛細胆管側の junctional complex より外側に向かう長さ3 μmの細胞間隙の面積 (Fig. 1) とし, 1症例につき50カ所計測した。

細胞間隙の幅, 面積の結果は平均値±標準偏差で示し, RN, AH, Ed I~II型 HCC, Ed IIおよびIII型 HCCの4つのグループで比較した。USで被膜の有無が明らかであったHCC 18例については, 両者間での細胞間隙の幅と面積を同様にして比較した。統計学的処理は Student's t-testを用いて検定し, 危険率5%未満を有意とした。

結 果

1. 組織診断

組織診断名による内訳は, RN 7, AH 10, HCC 20例であった。HCCの組織分類では, 索状型17例, 索状型が主体を占め部分的に充実型を示すもの2例, 偽腺管型1例であった。細胞異型度は, Ed I~II型 8, II型11, III型1例でIV型はなかった。

2. 腫瘤径と組織診断および異型度

USで計測した腫瘤の最大径別にみた組織診断の内訳は, 10 mm以下ではRN 1, AH 2, HCC 1例で, 11~20 mmではRN 4, AH 6, HCC 5例であった。21 mm以上になるとRN 2, AH 2, HCC 14例であった。HCCの異型度による内訳では, 10 mm以下でEd I~II型 1例, 11~20 mmでI~II型 4, II型 1例であった。21 mm以上では, I~II型 3, II型 10, III型 1例であった。

3. 光顕および電顕所見

1) RN例: 光顕的には豊かな細胞質をもつ肝細胞が1~3層の細胞索を構成しており, その核の大小不同は認められたが, 細胞異型や構造異型はなかった (Fig. 2 A)。電顕像では, 核は円形ないし類円形で核の不整はなかった。核クロマチンの分布状態は, 核膜に沿ってクロマチンが分布する傾向であったが, 不整な凝集や明らかな増加は目立たなかった。細胞小器官は豊富で粗面小胞体 (以下 RER) はミトコンドリアの近くに観察されることが多く, 毛細胆管周辺にはゴルジ装置やライソゾームがみられた。細胞のLSには多数の微絨毛突起が増生しており, 同部の細胞間隙は開大していた (Fig. 3)。

2) AH例: 光顕像では, 1~2層の索状配列を示す細胞で構成されており, 核/胞体比および細胞密度は軽度増加していたが, 偽腺管構造などの構造異型は乏しかった (Fig. 2 B)。電顕的には, 核形は類円形で大きさは比較的そろっており, 核輪郭の不整は目立たなかった。小型の核小体が認められることもあったが, 核ク

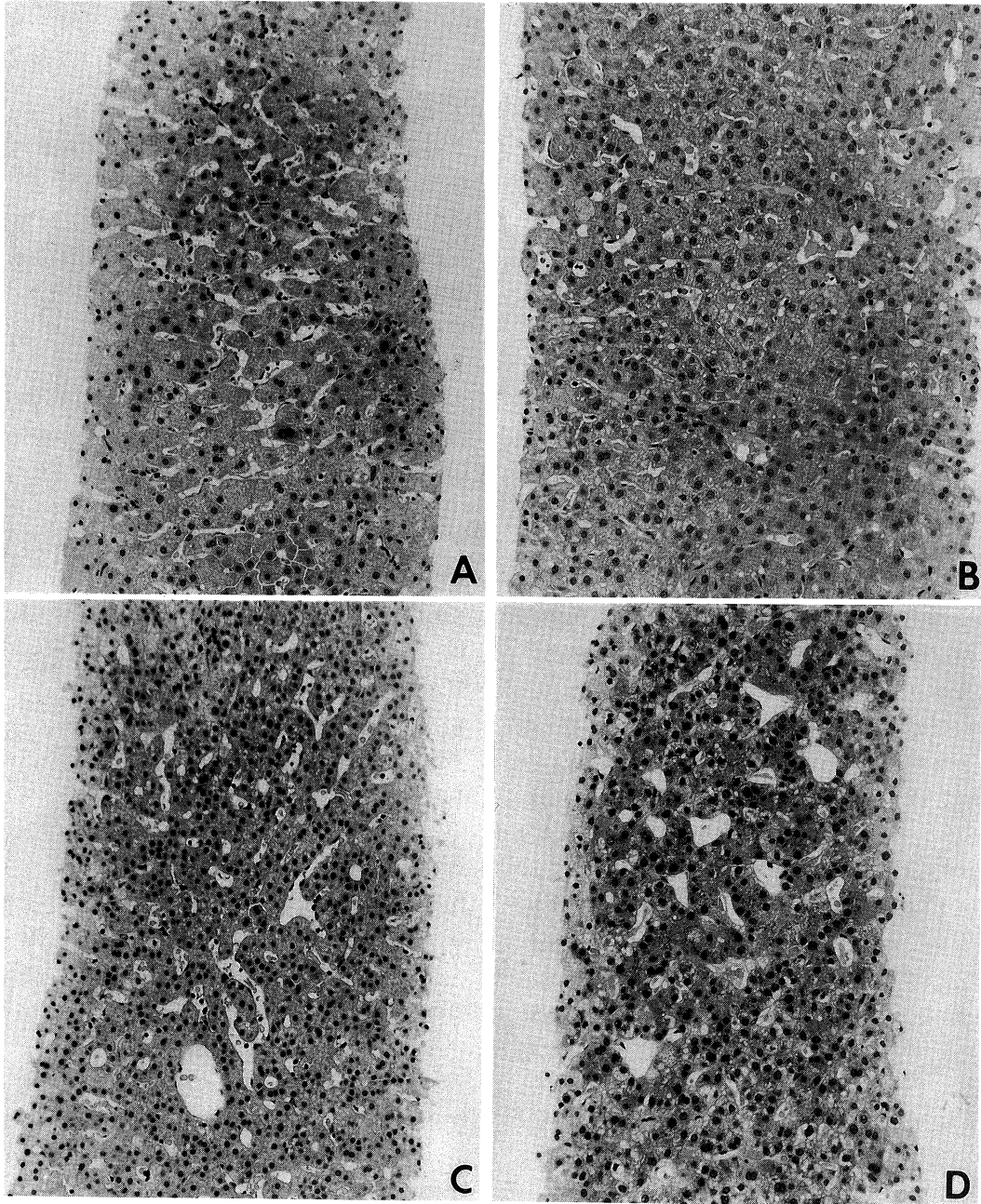


Fig. 2. Light microscopic pictures of specimens obtained by fine needle (21 gauge) biopsy of the liver (HE stain, $\times 200$)

A : Regenerative nodule

B : Adenomatous hyperplasia

C : Thin trabecular pattern of HCC, Edmondson's grade—I~II

D : Thick trabecular pattern of HCC, Edmondson's grade—II

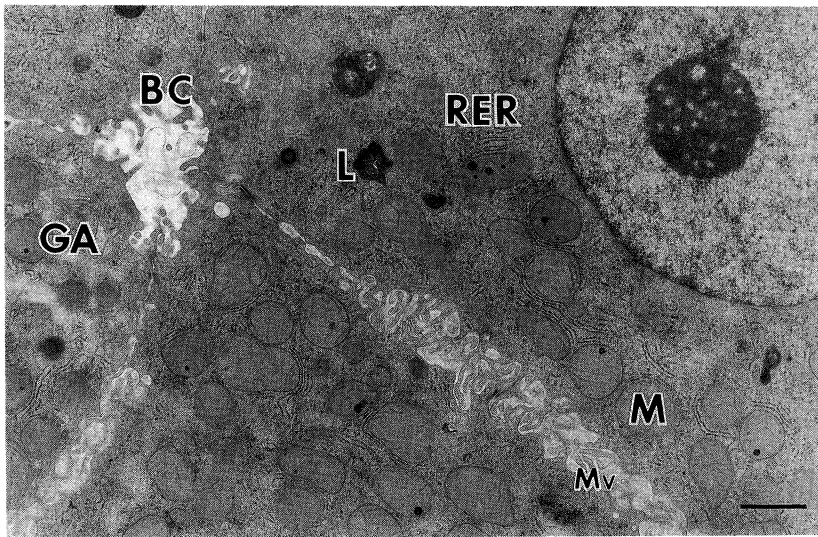


Fig. 3. Electron microscopic picture of regenerative nodule (scale bar = 1 μ m). Abundant mitochondria (M), round or oval in shape, are seen near the rough ER (RER). Several lysosomes (L) containing polymorphous dense contents and the Golgi apparatus (GA) are observed around the bile canaliculus (BC). The lateral surfaces project numerous microvilli (Mv) into the intercellular spaces.

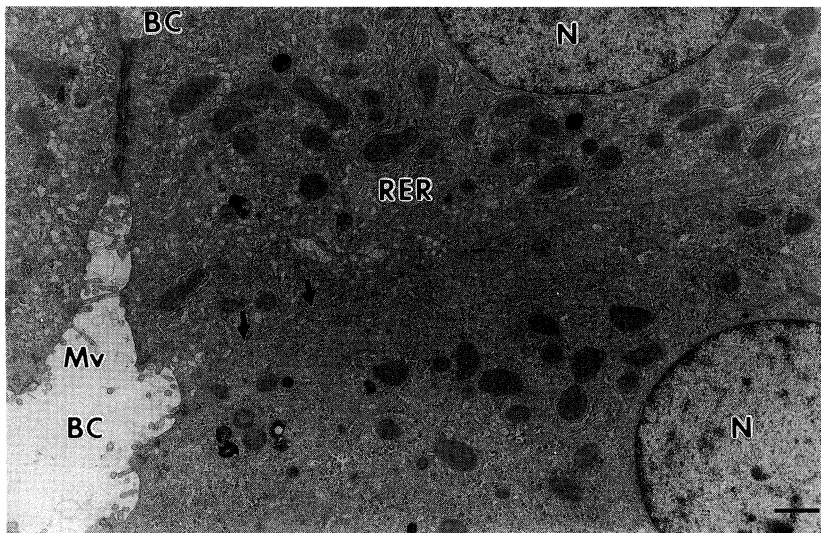


Fig. 4. Electron micrograph showing the cells of adenomatous hyperplasia (scale bar = 1 μ m). Nuclei (N), fairly round in shape are similar to those seen in regenerative nodule. Small mitochondria, round to oval in shape are usually seen near the rough ER (RER). The bile canaliculi (BC) are occasionally dilated and lined by microvilli (Mv). There are a few microvilli on the wavy-shaped lateral surfaces. The intercellular space is narrow (arrows) and the junctional complex is not clear in this portion.

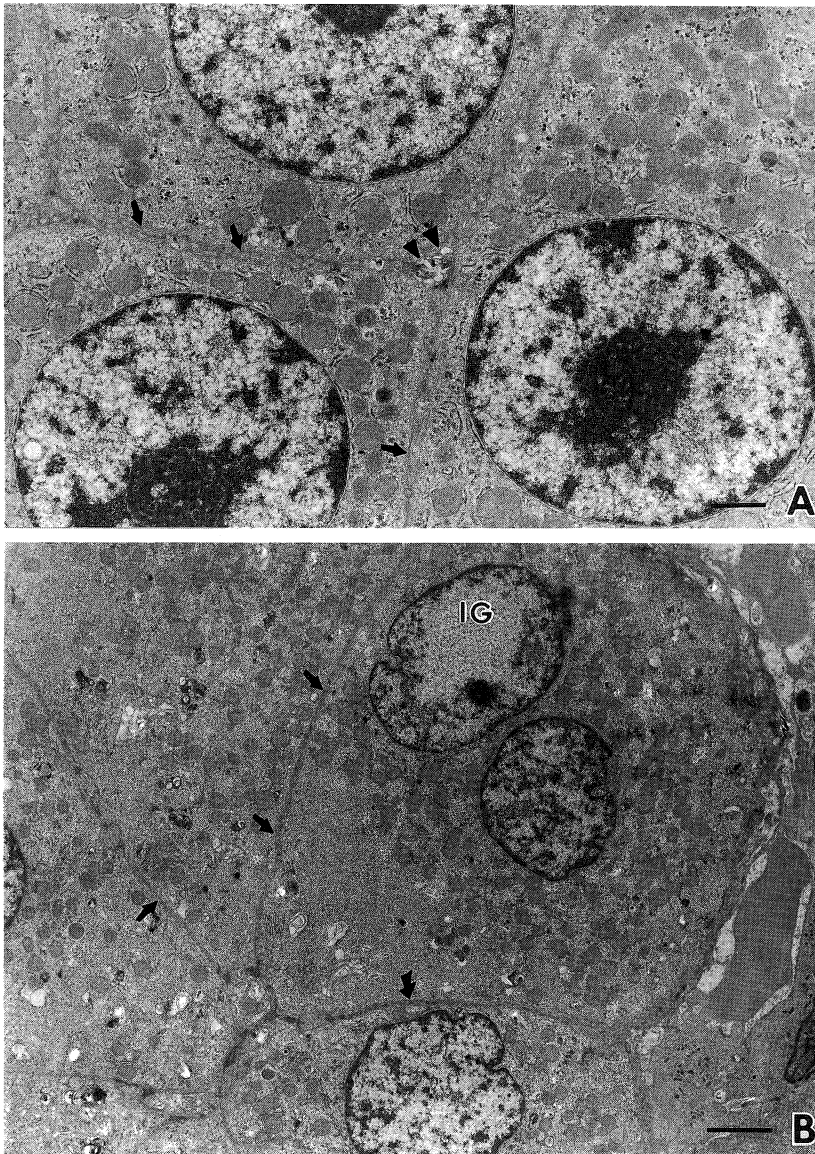


Fig. 5. Trabecular pattern of HCC : Edmondson's grade— I ~ II

A : Round-shaped nuclei, in uniform size, contain a large prominent nucleolus and irregular margination of the chromatin is usually seen in the nucleoplasm. Small round mitochondria are partially surrounded by rough ER. The intercellular spaces are narrow and the microvilli are appeared to be compressed in these spaces (arrows). A bile canaliculus-like structure (at arrowheads) is formed among hepatoma cells and the junctional complex is not clear in this portion (scale bar = 1 μ m).

B : Irregularly shaped nuclei, bi-nucleus and intranuclear glycogen deposits (IG) are seen. The hepatoma cells are closely in contact with each other, of which lateral surfaces are flattened or wavy with loss of the microvilli (arrows) (scale bar = 2 μ m).

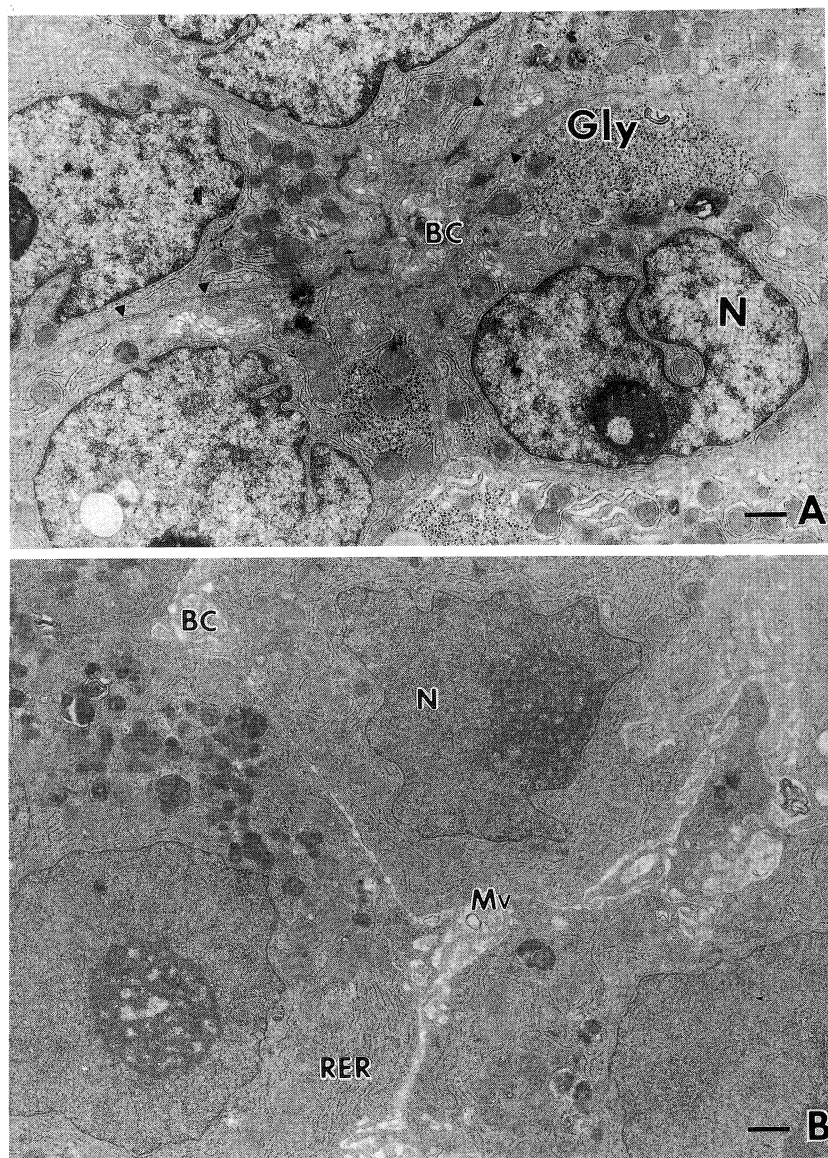


Fig. 6. Trabecular pattern of HCC : Edmondson's grade-II (scale bars= 1 μ m)

- A** : Large bizarre-shaped nuclei (N) with random distribution of the chromatin and glycogen particles (Gly) are observed in the hepatoma cells. A bile canaliculus-like structure (BC) is formed among five hepatoma cells and the lateral surfaces between adjacent cells are observed very close to each other. The microvilli of the hepatoma cells facing the lateral surface are poorly developed (arrowheads).
- B** : Irregular-shaped nuclei (N) with a marked prominent nucleolus and well developed rough ER (RER) are seen in these hepatoma cells. The plasma membranes are dissociated from each other with many elongated microvilli (Mv). The bile canaliculus-like structure (BC) among hepatoma cells, is seen and the junctional complex is not clear in this portion.

ロマチンの増加や凝集は少なく、ほぼ均一に分散する傾向であった。細胞質小器官では、RNのそれと比較して特徴的な形態上の差はなかったが、ミトコンドリアは比較的小型で、RERにより接近して分布する傾向があった。毛細胆管の管腔面にはRNにおけると同程度の微絨毛突起を認めることが多いが、管腔が拡張して微絨毛突起の減少しているものも認められた。AHにおけるLSの微絨毛突起はRN例よりも少なく、細胞膜にゆるやかなwavingがみられる程度のものであった。このようなところでは、細胞間隙の開大は目立たなかった(Fig. 4)。

3) Ed I～II型例：光顕像では腫瘍細胞は1～2層の索状構造を基本とするが、細胞の小型化を伴う核/胞体比の増大、細胞の大きさの均一化と細胞密度の明らかな増加、さらに偽腺管構造の出現、不整な索状配列などの構造異型が認められた(Fig. 2 C)。電顕的には、核の大きさは比較的均一で、形は類円形であった。核の不整は少なく、あっても軽度で、核内には濃縮クロマチンが核膜に沿って厚く凝集し、不均一に分布する傾向がみられた。核小体は大型で、多くは1個であった(Fig. 5 A)。一方、一部には核の不整がやや目立ちグリコーゲン核が観察されるものもあった(Fig. 5 B)。細胞質小器官はAHのものと同程度であったが、より小型のミトコンドリアを有するものがみられた。RERは核周囲やミトコンドリア周辺にみられ(Fig. 5

A, B)、毛細胆管近傍にはゴルジ装置が観察された。細胞接着装置は不完全なものもみられた。隣接する腫瘍細胞のLSはAHのものに比し互いに密接しているように観察された。同部の微絨毛突起は狭まった間隙で、圧排されていたり(Fig. 5 A)、微絨毛突起が減少して膜面が平坦化している間隙が多かった(Fig. 5 B)。また、膜面が相互に嵌入しているところも観察された。細胞間隙が狭小化してみえる所見は、毛細胆管を3個以上で形成している腫瘍細胞間で著明であった。

4) Ed IIおよびIII型例：光顕的には、核/胞体比が増加し染色性の増強した腫瘍細胞が不規則で厚い索状配列を示した(Fig. 2 D)。電顕では、核は大型で、核膜の陥入あるいはwavingといった核輪郭の不整が著明であった(Fig. 6 A, B)。核内には大型の核小体が見られ、核クロマチンの分布は不規則であった(Fig. 6 A)。細胞質小器官では、ミトコンドリアは小型であることが多く、RERの発達が良好なものもみられた(Fig. 6 B)。細胞接着装置は良く保たれているものや、不明瞭なもの(Fig. 6 B)もみられた。隣接する腫瘍細胞のLSをみると、同部の膜面に微絨毛突起は認められず、直線的に密接しているように観察されるものや(Fig. 6 A)、同じ索状型を呈するEd II型例でも同部の膜面に微絨毛突起が多数増生しており、細胞間隙が開大しているようにみられるもの(Fig. 6 B)もあっ

Table 1. Comparison of the width and the area of the intercellular spaces between adjacent cells at lateral surface in RN, AH and HCC

		width(μm) mean \pm SD	area(μm^2) mean \pm SD
RN	7 cases	0.149 \pm 0.002	3.97 \pm 0.52
AH	10 cases	0.098 \pm 0.001	2.21 \pm 0.41
Ed Grade I～II	8 cases	0.058 \pm 0.003	1.55 \pm 0.08
Ed Grade II, III	12 cases	0.017 \pm 0.001	1.09 \pm 0.82

RN : regenerative nodule, AH : adenomatous hyperplasia, Ed : degree of anaplasia of HCC by Edmondson and Steiner, * : P < 0.05, ** : P < 0.01, NS : not significant

た。Ed III型例は索状型1例のみであったが、電顕では核の不整が著明で、細胞小器官はEd II型例とほぼ同様の所見であった。隣接する腫瘍細胞の細胞接装置は不明瞭で、LSの細胞間隙は狭小化していた。

4. 細胞間隙

1) 幅：RNにおけるLSの細胞間隙幅(Table 1)は、 $0.149 \pm 0.002 \mu\text{m}$ で、AHでは $0.098 \pm 0.001 \mu\text{m}$ と有意に減少していた。Ed I~II型では $0.058 \pm 0.003 \mu\text{m}$ で、AHよりも有意に減少しており、Ed II型およびIII型は $0.017 \pm 0.001 \mu\text{m}$ と、AHおよびEd I~II型に比し有意な

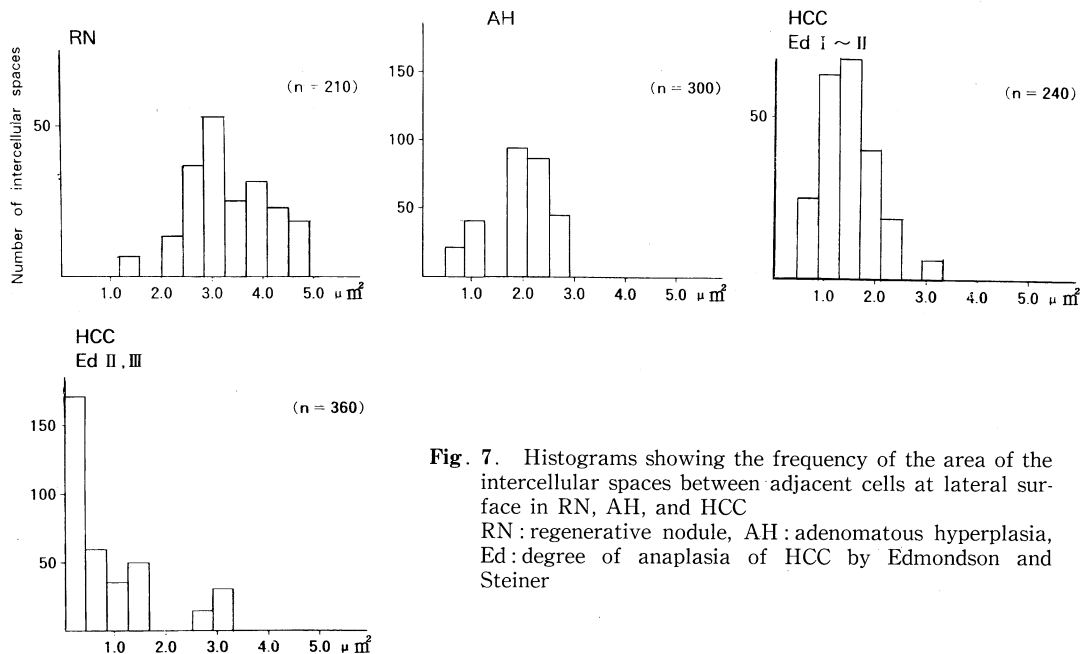


Fig. 7. Histograms showing the frequency of the area of the intercellular spaces between adjacent cells at lateral surface in RN, AH, and HCC
 RN: regenerative nodule, AH: adenomatous hyperplasia, Ed: degree of anaplasia of HCC by Edmondson and Steiner

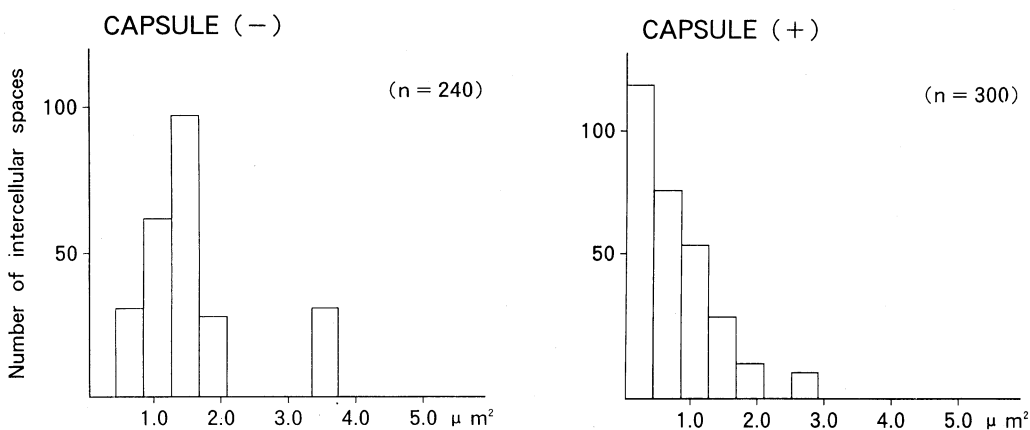


Fig. 8. Histograms showing the frequency of the area of the intercellular spaces between adjacent cells at lateral surface in HCC with and without capsule

Table 2. Comparison of the width and the area of the intercellular spaces between adjacent cells at lateral surface in HCC with and without capsule

	width(μm) mean \pm SD	area(μm^2) mean \pm SD
CAPSULE(+) 10 cases	0.021 \pm 0.003	0.95 \pm 0.20
CAPSULE(-) 8 cases	0.046 \pm 0.007	1.84 \pm 0.65

* : P<0.05, ** : P<0.01

減少を示した。

2) 面積: RN では, LS の細胞間隙の面積 (Table 1, Fig. 7) は, $1 \mu\text{m}^2$ から $5 \mu\text{m}^2$ の間に分布しており, その平均値は $3.97 \pm 0.52 \mu\text{m}^2$ であった. AH では, $2 \mu\text{m}^2$ から $3 \mu\text{m}^2$ に分布することが多く, 平均値は $2.21 \pm 0.41 \mu\text{m}^2$ と RN に比し有意に縮小していた. Ed I~II型では $1 \mu\text{m}^2$ から $2 \mu\text{m}^2$ にピークがみられ, 平均値は $1.55 \pm 0.08 \mu\text{m}^2$ と AH よりも有意な縮小を示した. Ed II型およびIII型では, $0.1 \mu\text{m}^2$ 以下にピークがあったが, $3 \mu\text{m}^2$ 前後にも小さなピークがあり, 平均値は $1.09 \pm 0.82 \mu\text{m}^2$ で, Ed I~II型とは有意差はなかった. AH と比較すると有意な面積の縮小を認めた。

3) 被膜の有無による比較: US で HCC の被膜形成所見がみられたのは10例, 認められなかったのは8例であり, 残りの2例は判別困難であった. 被膜所見を有した HCC 群となかった HCC 群とで比較すると (Fig. 8, Table 2), 有した群の幅は $0.021 \pm 0.003 \mu\text{m}$, 面積は $0.95 \pm 0.20 \mu\text{m}^2$ で, なかった群の幅は $0.046 \pm 0.007 \mu\text{m}$, 面積は $1.84 \pm 0.65 \mu\text{m}^2$ であり, 被膜を有する群の細胞間隙はなかった群よりも有意な狭小化を示した。

考 察

画像診断技術と肝臓外科手技の向上により, 小さな HCC の手術切除例が増えてきた. これらの HCC の組織像のほとんどは進行した HCC と異なり, 極めて高分化なことが多いとされている. 著者の対象例でも径が 20mm 以下のもので

は6例中5例が Ed I~II型の高分化型であった. このような小さな HCC は癌発生後比較的早期の段階にあると考えられ, 組織学的特徴が解明されてきている. その重要な組織学的所見としては細胞の均一化を伴う細胞密度の増加があり,

個々の細胞は異型に乏しく小型化し核/胞体比は増大していて, acinar structure の出現や cord structure の改変といった構造異型があるなどのほか, 細胞の淡明化あるいは脂肪変性などがある.^{7),8)}

一方, 良性とも悪性とも診断できない小結節性病変が「肝癌の境界病変」として注目されてきた.^{3),9)} 一般的に adenomatous hyperplasia (AH) と呼ばれる結節性病変は, HCC の手術例あるいは剖検例で非癌部に発見され,¹⁰⁾ 組織像が高分化型 HCC と類似しており, HCC を内包することがある^{11),12)} ことなどから前癌病変としての可能性が最も強い病変と考えられている.^{11)~14)} この AH とほぼ同様の組織像を呈する病変に細径針生検でもしばしば遭遇する. その確定診断は, 手術切除例あるいは剖検例と異なり, 組織片が小さく, しかも病変部の一部の組織の採取であることなどから困難なことが多い. 特に早期の高分化型 HCC との鑑別は極めて困難である. しかし臨床的には, この AH と HCC の鑑別診断は非常に重要であり, さらに AH と HCC の関係は発癌という面からも興味を持たれる. このような観点から RN を対照として, AH および HCC を構成する細胞を超微形態学的に観察して検討を行った。

電顕標本の作製にあたって, 細径針生検で得られた組織片は微小で通常の2時間固定では過固定となったため, 固定時間を変え90, 60, 45, 30分で検討した結果, 固定時間は30分が適切と思われた. また作製した電顕標本が, 光顕像と同じ所見を有する細胞集団であることの確認のため, トルイジンブルー染色した電顕用ブロッ

クからの薄切切片と HE 染色した光顕標本とを厳密に比較観察する必要があった。両者の所見が一致しない症例は、除外して研究対象としなかった。

AH との鑑別が問題となるような HCC は高分化型で、組織学的に細胞異型は乏しい。Ed I～II 型に相当する HCC では電顕的に核は円形ないし類円形で核形の不整はないか、あっても軽度であり核形では RN や AH との差はなかった。RN におけるクロマチンの分布状態は、核膜に沿って分布していたが、AH での分布は、ほぼ均一に分散する傾向にあった (Fig. 4)。代謝上、分散クロマチンを呈する核はリボ核酸合成能が高く、細胞質の蛋白質合成能などの活性度が高いと考えられており、¹⁵⁾ 分散クロマチンを呈する AH は、細胞増殖能が亢進している状態にあると考えられた。一方、Ed I～II 型では核膜に接近してクロマチンが凝集し、RN でみられたそれよりも粗大で不規則な分布状態を示す場合が多かった (Fig. 6 A, B)。Ed II 型以上になると、核形の不整が目立ち、クロマチンは不規則な凝集を示したり分散した状態であったり様々な分布状態を呈し、多彩性を示していた。光顕的にも、細胞異型で最も信頼のできる所見は、核異型であるとされているが、このような核形とクロマチンの分布状態の違いは、AH や HCC に特異的な所見とはいえないものの、比較的特徴的な所見であった。

細胞質小器官では、ミトコンドリアが RN のものに比較すると、AH と Ed I～II 型 HCC で小型化する傾向はあったが、その他には 3 者間に特徴的な形態上の差異はなかった。Ed II 型以上の HCC では、症例によって、また個々の細胞によって腫瘍細胞質小器官の発達程度は様々であった。これは、Ed II 型以上になると HCC 細胞の多彩性が進むことを示していると考えられた。

HCC では細胞異型度によって、腫瘍細胞相互の接合性も多彩であることが報告されている。中島ら¹⁶⁾ はこの細胞の接合性について、Ed I, II 型の接合性は良好で細胞接着装置も観察される

が、II 型の一部や III 型では接合性が不良で接着装置が不完全であると述べている。本研究でもほぼ同様な所見であった。

肝細胞の細胞膜は、Disse 腔に面する部分 (sinusoidal surface)、毛細胆管腔を形成する部分 (bile canalicular surface) および隣接肝細胞に面した部分 (LS) に分けられ、前 2 者は物質の取り込み、分泌、排泄などを盛んに行うため、微絨毛突起が多数形成され、表面積を大にしている。一方、LS は通常、これらに比べて平坦で微絨毛突起を有さず、肝細胞間の間隙は約 10～20 nm とされている。¹⁷⁾ 肝硬変の偽小葉内の肝細胞では LS の部分にも微絨毛突起が形成されており、microvillization と呼ばれている。これは、肝硬変という構造的悪条件下で、細胞表面積を大にし、物質交換を十分にするための適応現象と推定されている。そして細胞間隙は拡大している。¹⁸⁾ 本研究においても、RN では LS の微絨毛突起の増生と細胞間隙の拡大 (Fig. 3) がみられたが、細胞増殖が盛んと考えられる AH では同部の微絨毛突起は少なく、さらに Ed I～II 型の HCC では微絨毛突起が減少ないし消失し、LS の細胞膜面は平坦化していた (Fig. 5 B)。そこで、RN, AH および HCC 間における細胞間隙の変化を数量的に解析した。

LS の細胞間隙の幅は、RN, AH, Ed I～II 型, Ed II 型以上の各群間で有意差をもって RN > AH > Ed I～II 型 > Ed II 型以上の順で減少が認められた (Table 1)。細胞間隙の面積の計測でも、RN > AH > Ed I～II 型の順で有意差をもって面積が縮小していた。しかし間隙幅と異なり、Ed I～II 型と Ed II 型以上の群間に面積では有意差が認められなかった (Table 1)。これは、一つには幅と面積で、LS における計測部が異なっていたことによるとも考えられる。しかし、Ed II 型以上の間隙面積の平均値は $1.092 \pm 0.82 \mu\text{m}^2$ であるが、そのヒストグラム (Fig. 7) では、 $3 \mu\text{m}^2$ 前後にも小さいピークがあり、Ed II 型以上になると部分的に拡大した細胞間隙をもつ腫瘍細胞も増加していた。これは HCC が未分化になるに従って、構成腫瘍細

胞がより多彩性を示すことに一致する所見であろう。細胞間隙の狭小化をきたす機序としては、結節性病変の発育様式と病変周囲組織との関わり合いが重要と考えられる。著者の対象例もすべて肝硬変を合併していたが、本邦におけるHCCは高率に肝硬変と併存し、その発育様式は膨脹性発育をとることが多い。¹⁹⁾ HCCのなかでも高分化型は細胞密度が高いこと⁸⁾が報告されており、膨脹性に発育するこのような細胞集団では周囲組織よりも内圧が高まっていることが推定される。また、肝硬変併存例で、膨脹性増殖を示すHCCは線維性被膜を伴うことが多い。US上被膜のあるHCCとないものでLSの細胞間隙を比較すると、被膜の認められたHCCではなかったものに比し、細胞間隙幅、面積ともに有意に狭小化していた (Table 2)。これは、内圧の増加により細胞間隙が狭小化していることをさらに裏付ける所見と考えられた。このような内圧の増加により、LSの微絨毛突起は狭まった間隙で圧排されたり (Fig. 5 A)、減少ないし消失するのであろう。LSの細胞間隙の面積の検討でEd II, IIIの場合には、それぞれの症例で面積の非常に狭いものと広いものがあつた (Fig. 7)が、これは未分化に向かうに従い、腫瘍細胞が多彩性を示すということ以外に、浸潤性の発育をするものが多くなることにも関係あると考えられた。

AHにおける細胞間隙は、RNよりも有意な狭小化を示していた。杉原ら¹²⁾は、AHにおいても膨脹性発育を呈する部位があると報告しており、AHにおける狭小化もその発育様式に関連していると解され、AHを構成する細胞集団はRNに比較して発育・増殖能の高い細胞集団であると考えられる。AHはHCCの前癌病変として注目されているが、AHが前癌病変といわれる根拠の一つとして、AHのnoduleの中に明らかなHCCが発見されること、すなわちnodule in noduleの像を呈することがあげられている。Popper²⁰⁾は動物の発癌実験で過形成結節の中にcarcinomaの像を認めて、この過形成結節をprecursor stageとして報告している。LSの細

胞間隙の面からみて、RNのそれとは異なり高分化型のHCCに近かつた。AHと診断された症例には慎重な臨床的対応が必要であり、AHの経過観察においては、細胞間隙のより狭小化することに注意する必要があると考えられた。

AHではRNに比較して有意に細胞間隙が狭小化しており、これは両者の鑑別診断に重要な所見と考えられ、細胞異型の乏しい高分化型HCCの診断には細胞間隙の狭小化が、その補助になると考えられた

結 語

USで発見される肝内小結節性病変においては、HCCとその境界病変との鑑別が重要であり、特に高分化型HCCにおいてそうである。細径針生検で採取されたRN(7例)、AH(10例)、HCC(20例)の組織を透過電顕的に観察し、以下の結論を得た。

1. 核クロマチンの分布状態は、AHでは分散していることが多く、Ed I～II型に相当する高分化なHCCでは核膜に沿ってクロマチンが凝集し不規則な分布を呈する傾向がみられた。Ed II型以上では核形の不整がみられた。

2. RNでは、肝細胞のLSに増生した微絨毛突起がみられ、AHではそれぞれ減少していた。Ed I～II型の腫瘍細胞では減少あるいは消失していた。Ed II, III型ではEd I～II型と同程度であったが、存在するものもあつた。

3. 隣接する細胞のLSにおける細胞間隙の幅、面積は、RN, AH, HCCの順で共に有意に減少しており狭小化を示した。Ed II, III型になると広いものがあつた。HCCにおける細胞間隙は、US上の被膜所見陽性例で、その陰性例に比較して有意に狭小化していた。細胞間隙の狭小化は、高分化型HCCの膨脹性発育によるものと考えられた。

4. RNとAHとの鑑別診断および高分化型HCCの診断には、その構成細胞間隙の狭小化が重要な所見と考えられた。

稿を終えるに臨み、御指導と御校閲を賜った川崎医科大学附属川崎病院内科小林敏成教授に深甚なる謝意を表します。また御助言をいただいた川崎医科大学附属川崎病院病理部伊藤慈秀教授に深謝いたしますとともに、直接御協力をいただいた佐藤博道博士、ならびに技術的

援助をいただいた上平正子氏、増地智子氏に深く感謝をいたします。

なお、本論文の要旨は第25回日本肝臓学会総会、および第21回日本臨床電子顕微鏡学会総会ワークショップ“肝細胞癌”において発表した。

文 献

- 1) 木村道雄, 大藤正雄, 土屋幸浩, 税所宏光, 大村邦夫, 守田政彦, 品川 孝, 仲野敏彦, 常富重幸, 奥田邦雄: 超音波映像下穿刺による限局性肝疾患の診断. 日消病会誌 79: 1435-1442, 1982
- 2) 真島康雄, 藤本隆史, 岩井一郎, 田中正俊, 酒井輝文, 阿部正秀, 安部弘彦, 谷川久一: 新しいエコー下細径針組織生検法による肝細胞癌の組織診断とその意義. 肝臓 29: 628-636, 1988
- 3) 中島敏郎, 荒川正博: Adenomatous hyperplasia およびこれと鑑別困難な肝細胞癌. 「肝細胞癌の類似病変」(中島敏郎, 太田五六, 奥平雅彦, 荒川正博編), 第1版. 東京, 中外医学社. 1984, pp. 147-201
- 4) Suemune, Y., Kobayashi, T., Sato, H., Tokiya, R., Tokumitsu, S., Asakura, Y., Kato, K. and Nakashima, S.: Electron microscopic observation of human hepatocellular carcinoma by ultrasound-guided fine needle biopsy. J. Clin. Electron Microscopy 21: 924-925, 1988
- 5) Torimura, T., Ueno, T., Inuzuka, S., Tanaka, M., Yoshitake, M., Noguchi, K., Sakisaka, S., Abe, H. and Tanikawa, K.: Morphometric analysis of hepatoma cells. J. Clin. Electron Microscopy 22: 543-1989
- 6) 日本肝癌研究会: 臨床・病理. 原発性肝癌取扱い規約, 第2版. 東京, 金原出版. 1987
- 7) 金井歳雄: 小さい肝細胞癌の病理像. 病理と臨 4: 369-405, 1986
- 8) 神代正道: 肝細胞癌の病理—基本的病理形態学ならびに細小肝癌の病理所見について—. 癌と化療 16: 11-17, 1989
- 9) 森 亘, 志賀淳治: 肝癌の境界病変. 「肝疾患あすの話題」(森 亘, 志賀淳治編), 第1版. 東京, 中外医学社. 1985, pp. 183-232
- 10) Kondo, Y., Niwa, Y., Akikusa, B., Takazawa, H. and Okabayashi, A.: A histopathologic study of early hepatocellular carcinoma. Cancer 52: 687-692, 1983
- 11) Arakawa, M.: Emergence of malignant lesions within an adenomatous hyperplastic nodule in a cirrhotic liver. Gastroenterology 91: 198-208, 1986
- 12) 杉原茂孝: 肝細胞癌と鑑別を要する肝 adenomatous hyperplasia の3例. 肝臓 26: 766-772, 1984
- 13) Okuda, K.: What is the precancerous lesion for hepatocellular carcinoma in man? J. Gastroenterol. Hepatol. 1: 79-85, 1986
- 14) 荒川正博: 前癌病変 adenomatous hyperplasia. カレントセラピー 9: 12-15, 1987
- 15) Ghadially, F. N.: Chromatin in normal, neoplastic and necrotic cells. In Ultrastructural pathology of the cell and matrix, ed. by Ghadially, F. N. 3rd ed. London, Butterworths. 1988, pp. 14-27
- 16) 中島敏郎, 神代正道, 杉原茂孝, 剣持邦彦, 磯村 正: 原発性肝癌の病理形態学的研究—肝細胞癌の超微構造について—. 久留米医会誌 47: 1042-1058, 1984
- 17) Tanikawa, K.: Normal liver, the plasma membrane. In The liver and its disorders, ed. by Tanikawa, K. 2nd ed. Tokyo and New York, Igaku-shoin. 1979, pp. 5-6
- 18) Phillips, M. J. and Steiner, J. W.: Electron microscopy of liver cells in cirrhotic nodules. The lateral cell membranes. Am. J. Pathol. 46: 985-1005, 1965
- 19) 日本肝癌研究会: 第9回全国原発性肝癌追跡調査報告(1986~1987). 「病理」(戸部隆吉編), 第1版. 京都, 進行印刷出版. 1990, pp. 93-103
- 20) Popper, H., Sternberg, S. S. and Oser, B. L.: The carcinogenic effect of aramite in rats. A study of hepatic nodules. Cancer 13: 1035-1046, 1960