

# 肺癌細胞診UPDATE

国立病院機構茨城東病院胸部疾患・療育医療センター  
病理診断科  
南優子

2022年3月21日 愛媛臨床細胞学会

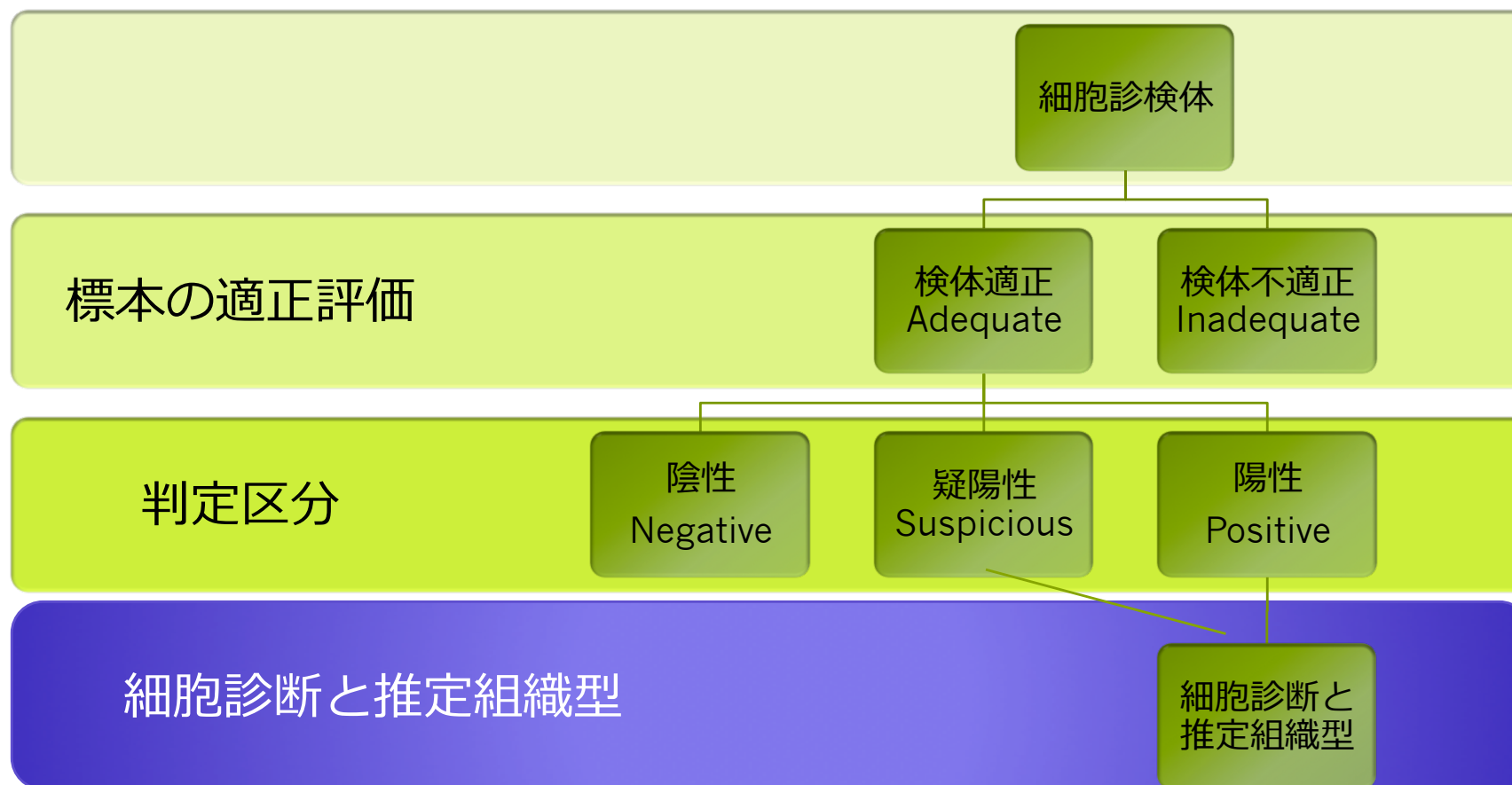
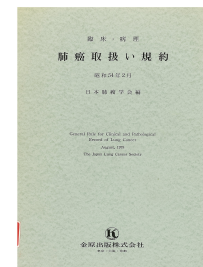


新しい呼吸器細胞診の

診断報告様式の提唱

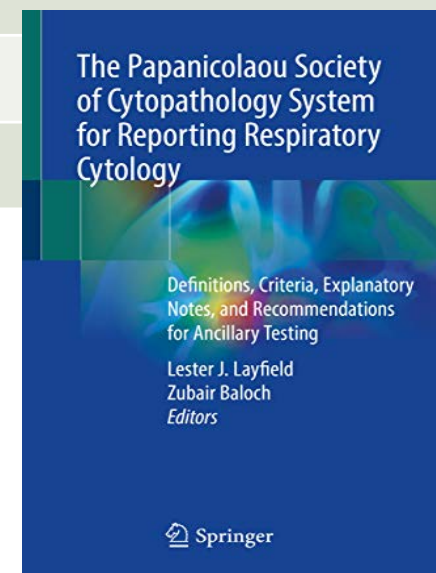
(日本臨床細胞学会、日本肺癌学会合  
同ワーキンググループ)

# 現在用いている3分類方式



# Papanicolaou 分類 2018 (PSCシステム)

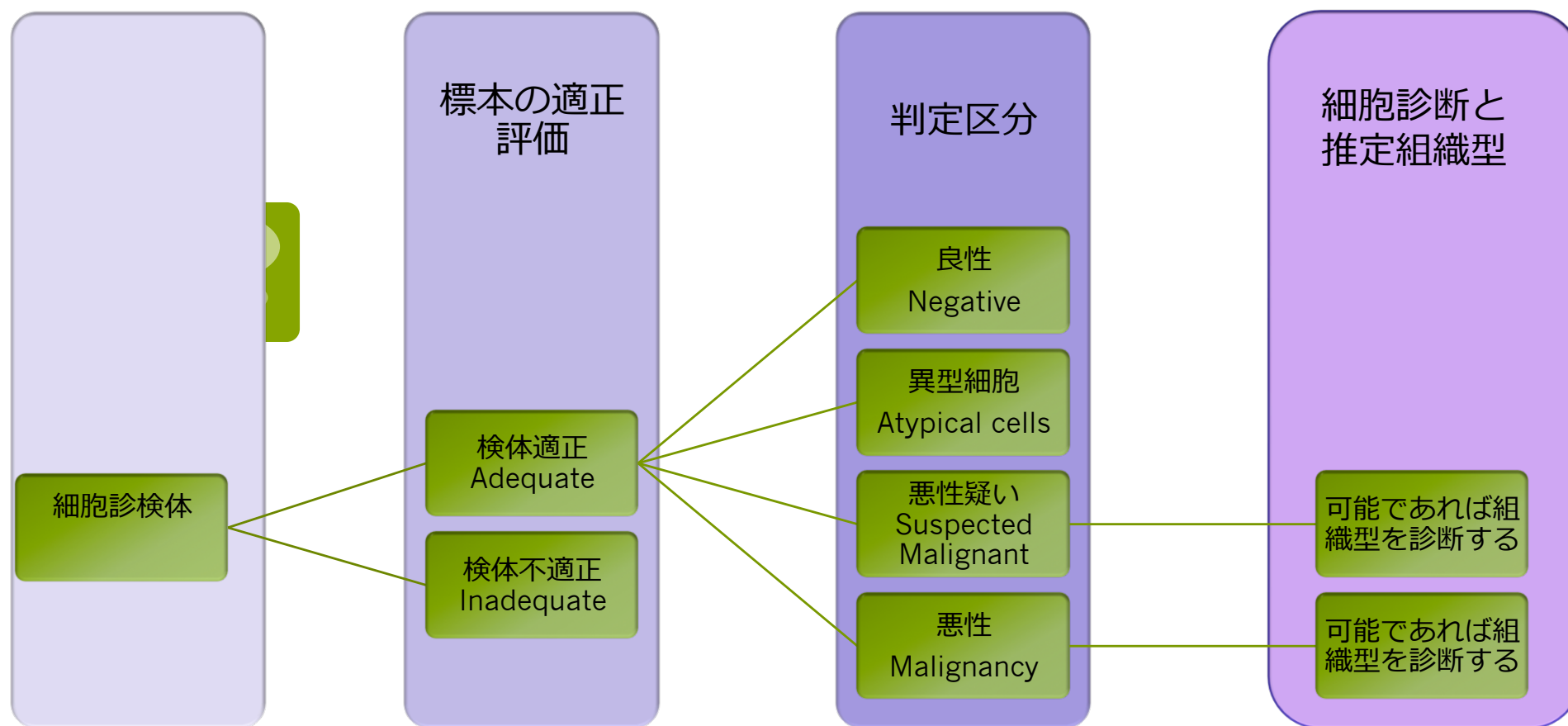
カテゴリー	意味	疾患例
I	Nondiagnostic 診断不能	目的とした細胞が採取されていない、不十分、リンパ節穿刺が血液のみなど
II	Benign 良性	肺膿瘍、抗酸菌症、真菌症、細菌性肺炎、ウイルス性肺炎（含むCOVID19）など
III	Atypical 異型	
IVA	Benign: 良性	硬化性肺胞上皮腫、過誤腫、乳頭腫、PEComaなど
IVB	Neoplasm-Undetermined malignant potential 新生物 悪性を否定できない	硬化性肺胞上皮腫、類上皮血管内皮腫、淡明細胞腫、LCH、髄膜腫、SFTなど
V	Suspicious of malignancy 悪性疑い	
VI	Malignant 悪性	



# 日本肺癌学会取扱規約の3分類とPapanicolaou分類 Pros & Cons

	Pros	Cons
日本肺癌学会取扱規約の3分類	<ul style="list-style-type: none"><li>・容易に分類できる</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>・疑陽性が雑多な分類になり、悪性も良性も入ってしまう。</li><li>・悪性を疑うが細胞数が少なく、異型が弱い場合は疑陽性に入り、治療が遅れる場合もある。</li></ul>
Papanicolaou分類	<ul style="list-style-type: none"><li>・細かく分類できる</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>・分類にまよう</li><li>・特にIII/IVA/ IVB、IVB/Vはどこに分類するかが難しい。</li></ul>

# 呼吸器悪性腫瘍の細胞診判定のための4分類方式の提案 (JLCC-JSCCシステム)



Hiroshima K et al. Acta Cytologica 2020;64:452-462 modify

# 新提案の4分類（JLCC-JSCCシステム）



- 判定区分
  - 良性
    - 悪性所見または明らかな細胞異型を認めない
  - 異型細胞
    - 細胞形態学的異型が悪性と診断したものより小さく、良性と診断したものより異型がある
  - 悪性疑い
    - 癌と診断するには不十分な形態像・または、異型細胞の出現数が少なく  
診断するには不十分
  - 悪性
    - 明らかに悪性と診断できる細胞学的特徴を有している。

Hiroshima K et al. Acta Cytologica 2020;64:452–462 modify

## 各カテゴリーに含まれる推定組織、疾患



- **Negative**: 良性腫瘍：過誤腫、硬化性肺胞上皮腫など、サルコイドーシス、炎症性疾患など
- **Atypical cells**：器質化肺炎、間質性肺炎、閉塞性肺炎、炎症性腫瘍、放射線性肺炎、乳頭腫、腺腫など
- **Malignancy**: 悪性腫瘍：癌、肉腫、中皮腫
- **Suspected malignant**: 悪性腫瘍細胞の数が少ない場合や異型が弱い場合にはsuspected malignantとする。



# Announcement a Future plan!!

- 今後4～5月くらいから、本4分類の Repeatability and Reproducibility studyを日本臨床細胞学会のシステムを使って、行う。



- 写真提示し、参加者に4分類を行ってもらおう。
- 2回行い、その間にオンライン上で画像の説明を行う。
- **皆様、お誘い合わせの上、ご参加をお待ちしております！**



# 細胞診ガイドライン 改定版



## 改定趣旨

- 2015年の出版ののちに分類や報告様式が変わり、日常診療に支障をきたしている点を中心に改定する。
- 2025年に全面改訂を行うので、それまでに変更が予定されている項目については、今回は無理をしない。

# 細胞診ガイドライン（2015年度版）改訂

- 呼吸器・胸腺

- 1. メジャー改訂項目



- 肺腫瘍の組織型分類 3 3 ページに2021WHO分類表を加える。

- 免疫細胞化学、遺伝子検査の項目をUPDATEする。3 2、5 5 ページ

- NUTやSMARCA4の細胞診項目、画像を加える。

- 2. マイナー改訂項目

- 全編を通して組織型の名称を更新する。カルチノイドの名称 NETを参考として入れる。



## 世界肺癌学会での 肺癌細胞診の取り組み



- さまざまな細胞診検体における免疫染色（コンパニオン診断）の成功に影響を与える分析前、分析、および分析後の要因について説明し、検証と品質管理のための対策を提案する。

*Cancer Cytopathol.* 2019 May ; 127(5): 325–339. doi:10.1002/ency.22137.

### **Immunocytochemistry for Predictive Biomarker Testing in Lung Cancer Cytology**

**Deepali Jain, MD, FIAC<sup>1</sup>, Aruna Nambirajan, MD, DNB<sup>1</sup>, Alain Borczuk, MD<sup>2</sup>, Gang Chen, MD<sup>3</sup>, Yuko Minami, MD<sup>4</sup>, Andre L. Moreira, MD<sup>5</sup>, Noriko Motoi, MD, PhD<sup>6</sup>, Mauro Papotti, MD<sup>7</sup>, Natasha Rekhtman, MD, PhD<sup>8</sup>, Prudence A. Russell, FRCPA<sup>9</sup>, Spasenija Savic Prince, MD<sup>10</sup>, Yasushi Yatabe, MD, PhD<sup>11</sup>, Lukas Bubendorf, MD<sup>10</sup>, IASLC Pathology Committee**

<sup>1</sup>Department of Pathology, All India Institute of Medical Sciences, New Delhi, India; <sup>2</sup>Department of Pathology, Weill Cornell Medicine, New York, New York; <sup>3</sup>Department of Pathology, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai, People's Republic of China; <sup>4</sup>Department of Pathology, National Hospital Organization, Ibaraki Higashi National Hospital, Ibaraki, Japan; <sup>5</sup>Department of Pathology, New York University Langone Health, New York, New York; <sup>6</sup>Department of Pathology and Clinical Laboratories, National Cancer Center Hospital, Tokyo, Japan; <sup>7</sup>Department of Oncology, University of Turin, Turin, Italy; <sup>8</sup>Department of Pathology, Memorial Sloan Kettering Cancer Center, New York, New York; <sup>9</sup>Anatomical Pathology Department, St. Vincent's Hospital and the University of Melbourne, Fitzroy, Victoria, Australia; <sup>10</sup>Institute of Pathology, University Hospital Basel, Basel, Switzerland; <sup>11</sup>Department of Pathology and Molecular Diagnostics, Aichi Cancer Center, Nagoya, Japan.

**TABLE 2.**

Advantages and Disadvantages of Various Cytology Preparation Methods for Application of Immunocytochemistry

Preparation (Sample Feasibility)	Advantages	Disadvantages
CB (all types of samples except those with low cellularity)	Morphology and epitope stability comparable to histology Multiple sections for ICC panels Easier validation using IHC protocols	Inconsistent cellularity Time-consuming Different methods of preparation lacking standardization
Direct smears (FNA, brushings, sedimented fresh effusions)	Histology FFPE controls acceptable (if collected in formalin) Bulk of the material used in cytopathology practice  Excellent cytomorphology Extra smears easily made during aspiration ICC can be performed on the same diagnostic smear Applicable even for smears with few tumor cells <sup>a</sup> Coverslipped alcohol-fixed Papanicolaou-stained smears show stable epitopes for ~2 years <sup>36</sup>	Non-formalin-fixed CBs require revalidation Require larger quantities of antibody to cover entire slide <sup>16</sup> Limited ICC panels ICC revalidation required
Cytospin specimens (low-volume fluid samples and FNA collected in nonfixative solutions, ideally 0.9% NaCl solution)	Rapid  Several slides from the same specimen for ICC panels <sup>16</sup> Alcohol-fixed, air-dried, unstained cytospins can be stored at 4°C for a month, at -20°C for several months, and at -70°C for years without loss of antigenicity <sup>16</sup>	Not suitable for specimens with blood or mucous Inferior cytomorphology to smears <sup>b</sup> Cell counting to make aliquots of 0.5–1 × 10 <sup>5</sup> cells/mL for optimum cellularity <sup>16</sup> ICC revalidation required
LBC (all types of cytology specimens)	Uniform cell collection and standardized processing Clean background due to clearing of blood and mucous Multiple slides from same specimen for ICC panels Smaller quantity of reagent required Material easily stored for up to 6–8 weeks in preservative solution at room temperature <sup>37</sup> Alcohol-fixed, air-dried, unstained LBC slides can also be stored at -70°C for years without loss of antigenicity <sup>16</sup>	Altered cytomorphology <sup>c</sup> ICC revalidation required

Abbreviations: CB, cell block; FNA, fine needle aspirate; ICC, immunocytochemistry; IHC, immunohistochemistry; LBC, liquid-based cytology.

<sup>a</sup>Use of tumor cell mapping either by photocopy of the slide or marking location on a superimposed glass slide, or by saving microscope co-ordinates helps in relocating rare tumor cells on the ICC slide.

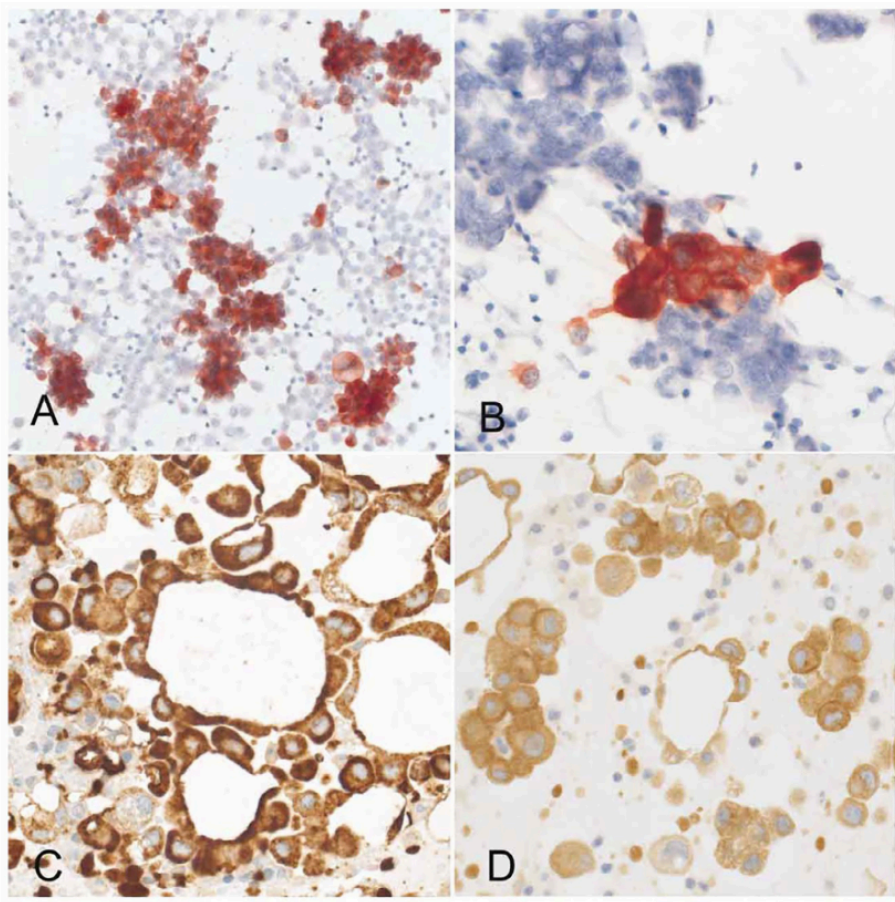
<sup>b</sup>Alteration of cell composition by speed and time of centrifugation can occur. We recommend careful centrifugation of 2 min at 400 rpm, followed by fixation in ethanol-acetone for 10 minutes.

<sup>c</sup>Cells more dyscohesive with shrinkage artefacts leading to difficulty in identification of isolated small atypical cells on low power examination.



# ALK

Figure 1.



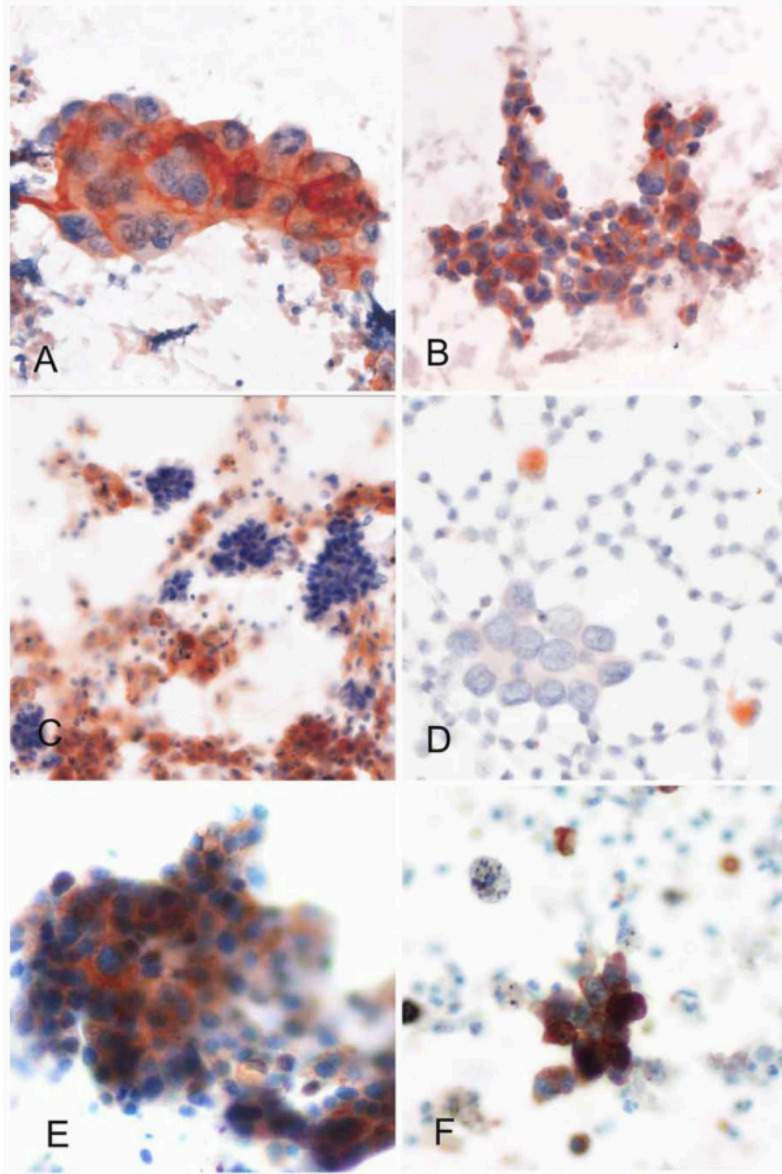
ALK immunocytochemistry images of *ALK* re-arranged pulmonary adenocarcinomas on previously Papanicolaou-stained non-CB cytology. (A, B) Homogeneously positive tumor cells with admixed ALK-negative benign cells. A laboratory-developed test using 5A4 antibody (Novocastra) was performed on an automated immunostainer (Leica Bond), and AEC (3-amino-9-ethylcarbazole) was used as a chromogen (A, magnification  $\times 200$ ; B, magnification  $\times 400$ ). (C, D) CB specimen stained with the Ventana ALK (D5F3) CDx Assay (C, magnification  $\times 400$ ) and ALK 5A4 antibody (D, magnification  $\times 400$ ) on the Ventana BenchMark system using 3,3'-diaminobenzidine (DAB) as a chromogen.



- A,BはALK陰性細胞と陽性細胞を混ぜて作成した実験的な非セルブロック 検体。
- C,Dはセルブロック でCはD5F3, Dは5A4
- ALKの染色は細胞数が少なくても可。



Figure 3.

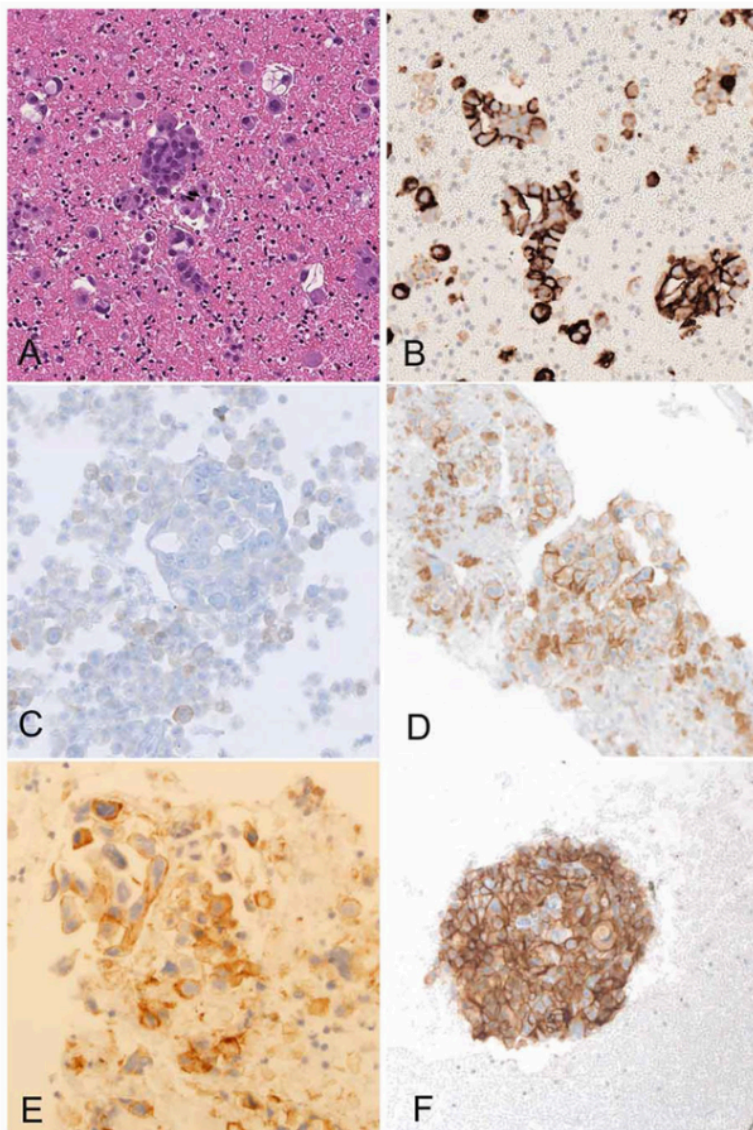


## PD-L1



- PD-L1の発現は腫瘍内の不均一性があるため、PD-L1テストに生検検体や細胞診検体を使用する場合にサンプリングバイアスに関する懸念が生じる。
- とはいえ、組織が採取できない患者でセルブロックでPD-L1染色を行った11人中8人免疫チェックポイント阻害剤の効果がみられた。
- 非セルブロック 標本A~DがSP142, A,B陽性、C,D陰性。E,FはSP263

Figure 4.



# PD-L1



- セルブロック 標本
- (A、B) すべての腫瘍細胞がPD-L1に陽性 (A:H&E, B:PD-L1)。
- (C) 腺癌細胞および組織球、PD-L1が弱陽性
- D) ほとんどの腫瘍細胞がPD-L1陽性 (倍率×200) のNSCLC。
- B-D) VentanaBenchMarkでDAKO22C3(Ldt)
- (E、F) BenchMarkでのVentana PharmDxアッセイ
- TTF-1および/または汎白血球マーカー (CD45など) などの確認免疫染色を対応するセクションで実施すると、PD-L1陽性のスコアリングのための腫瘍細胞の確認に役立つ。



- **Title:** Non-small cell lung carcinoma subtyping in conventional cytology: Results of the IASLC Cytology Working Group survey to determine specific cytomorphological criteria for adenocarcinoma and squamous cell carcinoma
- **Authors:** Deepali Jain<sup>1</sup>, Aruna Nambirajan<sup>1</sup>, Gang Chen<sup>2</sup>, Kim Geisinger<sup>3</sup>, Kenzo Hiroshima<sup>4</sup>, Lester Leyfield<sup>5</sup>, Yuko Minami<sup>6</sup>, Andre L Moreira<sup>7</sup>, Noriko Motoi<sup>8,9</sup>, Mauro Papotti<sup>10</sup>, Natasha Rekhtman<sup>11</sup>, Prudence A Russell<sup>12</sup>, Spasenija Savic Prince<sup>13</sup>, Fernando Schmitt<sup>14</sup>, Yasushi Yatabe<sup>8</sup>, Serenella Eppenberger-Castori<sup>13</sup>, Lukas Bubendorf<sup>13</sup>, for the IASLC Pathology Committee\*

JTO, in press

## 目的

- 細胞診におけるNSCLCの組織型診断に有用な既知の細胞形態学的特徴を抽出し、診断のアルゴリズムを特定すること。





- 方法：細胞病理医 13名でオンライン参加
- 119のNSCLC細胞診症例（ADが80、SCが39）、各4～5枚の写真（バーチャルではない）を提示。
- 23個の事前に定義された細胞形態学的特徴から選択し診断を行った。
- AD, SQ, NSCLC-NOSに分類した。（必要な免疫染色や粘液染色の有無も）
  
- 結果：回答は1474件
- 一致した細胞診タイピングが53.7%（792/1474）
- NSCC-NOS率：LUADで36%とLUSCで38%と類似
- 誤分類率は、LUSC（17.6%）の方がLUAD（5.5%;  $P < 0.0001$ ）よりも高かった。
- 角化は、存在する場合、LUSCを高精度で認識したが、角化がない場合、誤分類率をあげずに細胞診NSCC-NOS率を下げることはできなかった。



**Table 1:** Pre-defined morphological criteria that were displayed to the participants asked to choose the subtype: LUAD, LUSC, NSCC-NOS, immunostains (or mucin stain) required



LUAD cytological features	LUSC cytological features
Intracellular mucin Extracellular mucin Acinus formation Rounded 3D cell clusters Papillary formations with fibrovascular cores Cylindrical cell shape Translucent (delicate) cytoplasm Vacuolated cytoplasm Eccentric nuclei Vesicular nuclei with open chromatin Prominent nucleoli Nuclear grooves Nuclear pseudo-inclusions	Keratinization Intercellular bridges Dense (opaque) cytoplasm Tadpole or spindle cell shape in the absence of keratinization Cell cannibalism Hyperchromatic nuclei Heterochromatic nuclei Pyknotic chromatin in the absence of keratinization Irregular nuclear membranes Necrotic debris  



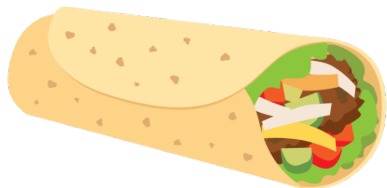
JTO, in press

## 結論：

- AD, SQの分類には角化の存在が重要なポイントである。
- NSCLC-NOSをは診断するには、免疫染色が必要である。



# WRAP UP



- 肺癌における細胞診検体は最終診断となる場合や遺伝子検査へ用いられるなど有用性が高い。
- 肺癌の診断に用いる国際的な細胞学的分類として4分類とするJLCC-JSCCシステムを提案した。
- 世界肺癌学会の細胞診グループでは腺癌、扁平上皮癌、NOSの鑑別に有用な所見を検討中。