

甲状腺濾胞腺腫と腺腫様甲状腺腫の組織像の計量化による 検討

山根 康彦

甲状腺濾胞腺腫と腺腫様甲状腺腫は臨床的には結節性甲状腺腫の範疇に属し、組織学的にもその鑑別が困難なことがある。本研究は両者並びに正常甲状腺の濾胞についてその組織像の計量化を行い、鑑別診断が可能であるか否かを試みる目的で行ったものである。

解析は個々の濾胞像と組織の全体像の数量化により行い、腺腫様甲状腺腫については3次元解析による検討も加えて行った。

個々の濾胞像は、その面積、周長、長径、形状係数、および濾胞に対する濾胞上皮の割合(以下EF比)を測定し、組織の全体像は濾胞の配置と、その個数と面積の密度により検討した。

その結果、腺腫は正常と比較すると、小型で円に近い形状を呈し、EF比は高値を示した。空間配置は規則型の配置をとり、大型濾胞の密度は面積、個数とも低値を示した。

これに対し腺腫様甲状腺腫は正常に比べ、様々な形態を呈し、空間配置は集塊型の配置を示し、大型濾胞の面積に対する密度は高値を、個数に対する密度は低値を示した。

さらに腺腫様甲状腺腫の大型濾胞を用いた立体再構築による検討では、大型濾胞は単純な球状の形態ではなく、その周囲に多数の娘濾胞ともいべき小濾胞様の突出を認める半月状の形態を示し、このような変化が腺腫様甲状腺腫における濾胞形状の多様性の一因をなすものと推測された。

(昭和63年2月17日採用)

Analysis of Thyroid Follicular Adenoma and Adenomatous Goiter by Tissue Quantification

Yasuhiko Yamane

Clinically, benign nodular goiters are composed of either adenoma or hyperplastic nodule. However, histologically, differentiation of them is occasionally difficult. We attempted to elucidate the histological difference in the follicles of adenoma, hyperplastic nodule and normal thyroid by tissue quantification analysis.

Firstly, a detailed analysis of the individual follicles was done with several parameters, i.e., their area, circumference, shape coefficient and epithelo-follicular ratio (EF-Ratio).

川崎医科大学 形態系内分泌病理学
(指導: 原田種一教授)
〒701-01 倉敷市松島577

Division of Endocrine Surgery, Department of Surgery,
(Director: Prof. Tanekazu Harada), Kawasaki Medical
School: 577 Matsushima, Kurashiki, Okayama, 701-01
Japan

Secondly, under low magnification, the spatial pattern and follicular density of the follicles were analyzed.

Lastly, three dimensional reconstruction of a large follicle in an adenomatous nodule was performed.

The results obtained were as follows.

1. The follicles in the adenoma were monotonous, small, almost circular in shape and had a high EF-Ratio. Under low magnification, the tissue structure of the adenoma exhibited regular-type spatial pattern. The density in large follicles was low.

2. The follicles in the adenomatous nodule varied in form and clustered in a spatial pattern. The large follicles had a high packing density.

3. Three dimensional reconstruction of a large follicle in an adenomatous nodule showed it to be not spherical, but semilunar in shape, accompanied by several satellite follicles. The relationship of the parameters between the follicular structure, area, circumference, shape coefficient, EF-Ratio, and spatial pattern was determined by three dimensional analysis of an adenomatous large follicle.

In conclusion, the quantitative approach is available for differentiation between adenoma and adenomatous nodule since the histological propensity of the former is toward monotonous pattern, while that of the latter is characteristically polymorphous.

Before routine use, however, further study is necessary. (Accepted on February 17, 1988) *Kawasaki Igakkaishi* 14(3): 328-335, 1988

Key Words ① **Follicular adenoma of the thyroid** ② **Adenomatous goiter**
③ **Spatial pattern analysis** ④ **Three dimensional reconstruction**

緒 言

結節性甲状腺腫は良性と悪性と大別され、良性のものはさらに腺腫と腺腫様甲状腺腫に分類される。腺腫は腫瘍性の病変であり、その大部分は濾胞腺腫であるが、腺腫様甲状腺腫は何らかの原因により、甲状腺組織が過形成と退行性変化を繰り返すことによって生じたものであり、真の腫瘍性の変化ではない。このように両者の病因が異なるにもかかわらず、その組織像は類似することが多く、両者の鑑別は病理学的検索をもってしても困難な場合がある。^{1),2)}

そこで、両者の組織学的差異を客観的に把握するため、甲状腺組織の特徴である濾胞を用い、その形態、配置および密度を指標として組織所見の計量化を行い、さらに立体再構築によ

り得られた所見も加えてその有用性を検討したので報告する。

対象および方法

A 対 象

対象として正常甲状腺3例、濾胞腺腫3例、腺腫様甲状腺腫3例を使用した。

正常甲状腺は全例法医解剖例より得た。いずれの症例も事故による急性死亡例で、触診ならびに剖検所見上明らかな異常を認めず、組織学的にも正常とされたものである。

濾胞腺腫および腺腫様甲状腺腫は当院の手術症例中、Meissner and Warren の判定基準³⁾(Table 1)に従って、最も典型的と思われた症例を選択した(Fig. 1)。

B 方法

切片は可及的速やかにホルマリン固定を行った後、割面が最大となるように作製し、H-E染色を行った。

標本抽出(サンプリング)は各切片全体の連続写真を撮影し、乱数表を用いたランダムサンプリングにより行った。濾胞形態の把握のため500倍の倍率では 0.16 mm^2 の領域を5か所、結節全体の組織像の把握のため75倍の倍率で

Table 1. Comparison of adenomatous goiter nodule and true adenoma

Adenomatous goiter nodule	True adenoma
Multiple nodules	Solitary nodule
Poor encapsulation	Good encapsulation
Variable structure	Uniform structure
Comparable growth pattern in adjacent gland	Different growth pattern from adjacent gland
No compression of adjacent gland	Compression of adjacent gland

(quoted from Meissner and Warren: AFIP)

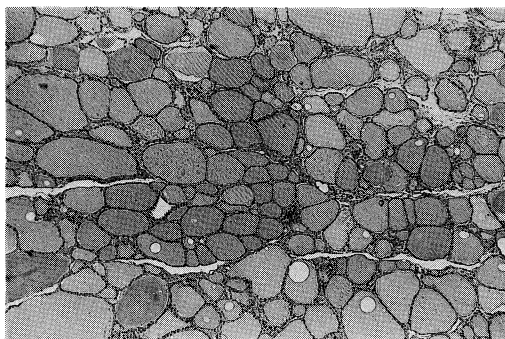
は 1 mm^2 の領域を2か所、35倍では全切片をそれぞれ測定領域とし、各測定領域内の濾胞をトレースし、そのトレース像を計測した。

計測には平面画像解析装置(NIKON, COSMOZONE 1S)、立体画像再構築装置(NIKON, COSMOZONE 2S)およびパーソナルコンピュータ(NEC, PC9801VM2)を使用し、濾胞の面積、周長、長径、重心点(x, y)を求め、重心点が測定領域内に含まれる濾胞を選択し、これらの計測結果を基に、以下の解析を行った。

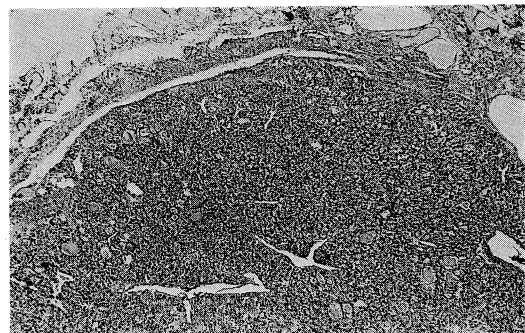
1. 濾胞形態の検討

濾胞形態をあらわす指標として、濾胞の面積、周長、長径に加え、形状係数および濾胞に対する濾胞上皮の割合(EF比)を検討した(500倍)。

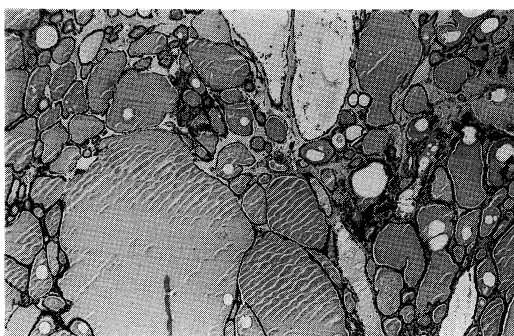
EF比とは濾胞と濾胞上皮との割合を形態学的に示すために設けた指標であり、各濾胞における濾胞と濾胞腔に等しい面積を有する円の半径を、それぞれ濾胞半径(R_1)、濾胞腔半径



a) normal



b) adenoma



c) adenomatous

Fig. 1. Follicular adenoma and adenomatous goiter (H-E stain, $\times 35$)

- The unit of this thyroid structure is the follicle, a closed saclined with epithelium and containing colloid. Individual follicles are roughly spherical and vary considerable in size.
- Low magnification of a follicular adenoma shows typical tissue atypism. The follicles are similar in size and colloid content to those of a normal thyroid gland.
- Low magnification of an adenomatous goiter also shows its typical tissue atypism. Considerable variation in follicular size and focal stromal fibrosis are shown.

(R_2)とし、上皮高(H)を $R_1 - R_2$ とした。この時 EF 比は

$$\begin{aligned} \text{EF 比} &= H/R_1 \\ &= 1 - R_2/R_1 \end{aligned}$$

となる (Fig. 2)。

2. 組織の全体像に対する検討

組織の全体像の解析は濾胞の分布をその配置と密度を指標として検討することにより行った(75倍)。また腺腫様甲状腺腫に対しては35倍の倍率での検討も加えて行った。

1) 濾胞配置

各測定領域における濾胞の空間配置の検討を空間パターン解析(距離法)^{4),5)}に基づいて行った。

空間パターン解析とは濾胞の配置を(1)規則型、(2)ランダム型、(3)集塊型に分類する方法であり、今回の検討では解析の指標として、Hopkins and Skellam の指標(H)、および検定統計量(X)を用いた。

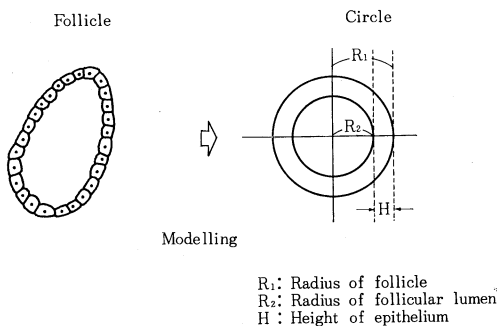


Fig. 2. EF-Ratio (Epithello Follicular Ratio)

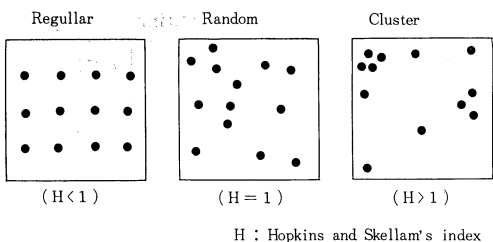


Fig. 3. Spatial pattern analysis (with distance method)

組織平面上におけるランダム点 (P_i^*) と濾胞 (F_j^*) のそれぞれの最近接濾胞までの距離を $r(P_i^* - F)$, $r(F_j^* - F)$ とすれば、

$$H = \frac{\sum_{i=1}^n \{r(P_i^* - F)\}}{\sum_{i=1}^n \{r(F_j^* - F)\}}$$

$$X = H/(H+1)$$

であらわされる。

今回の検討では各々の空間パターンは以下のごとく分類した (Fig. 3)。

(1) 規則型

$$X < 1/2 - 1/\sqrt{2n+1}$$

(2) ランダム型

$$1/2 - 1/\sqrt{2n+1} \leq X \leq 1/2 + 1/\sqrt{2n+1}$$

(3) 集塊型

$$X > 1/2 + 1/\sqrt{2n+1}$$

2) 濾胞密度

測定領域内に存在する濾胞の密度について、面積の密度 (Packing Density: PD) と個数の密度 (Number Density: ND) とを検討した。まず75倍の倍率での、腺腫、腺腫様甲状腺腫および正常甲状腺組織における密度の検討を行った。

(a) 全濾胞の密度に関する検討

各測定領域における、単位面積当たりの濾胞数と濾胞面積を求め、全濾胞の密度とした。

(b) 大型濾胞の密度に関する検討

正常甲状腺組織の平均濾胞面積 + 1SD ($\approx 16,000 \mu\text{m}^2$) 以上の面積を有する濾胞を大型濾胞とし、各測定領域での全濾胞に占める大型濾胞のみの割合を求め、大型濾胞の密度とした。

3. 立体再構築

腺腫様甲状腺腫の大型濾胞を75倍の倍率における立体再構築法⁶⁾により検討した。

結 果

1. 濾胞形態に関する検討

腺腫、正常および腺腫様甲状腺腫における濾胞の面積、周長、形状係数およびEF比をTable 2に示したが、形状係数およびEF比は

3者間のいずれの比較においても有意な差を認めた ($P < 0.01$: Wilcoxon の順位和検定).

2. 組織の全体像に関する検討

1) 濾胞配置

腺腫, 正常および腺腫様甲状腺腫の濾胞の空間配置は **Table 3** に示した. 腺腫と正常の空間配置は, それぞれ規則型とランダム型を示したが, 腺腫様甲状腺腫の空間配置は75倍の倍率ではランダム型と集塊型が混在していた. また, 35倍の倍率での切片全体の解析では, 腺腫様甲状腺腫は全例とも明らかな集塊型の配置を示した.

2) 濾胞密度

腺腫, 正常, 腺腫様甲状腺腫における全濾胞と大型濾胞の密度は **Table 4** に示したが, 大型濾胞の密度は個数密度, 面積密度共に3者の間に有意な差を認めた ($P < 0.01$: Wilcoxon の順位和検定).

3. 立体再構築

腺腫様甲状腺腫の大型濾胞の立体再構築像は **Figure 4** に示した.

大型濾胞はその周囲にいくつかの娘濾胞とも言わべき小濾胞様の突出を有した半月状の形態を示した.

考 察

形態学は, その初期においては, たんに形態を言葉で記述するのみであった. しかしながら近年の科学技術の進歩, 特にマイクロコンピュータの開発により形態学は主観的な観察から, 次第に客観的判定へと発展しつつある.^{7),8)}

医学における形態の定量化も心筋,⁹⁾ 乳癌¹⁰⁾ などの領域において試みられており, 甲

状腺疾患における組織学的定量化については既に報告した.^{11)~13)} そこで本稿では組織平面上における個々の濾胞構造の解析と, 組織の全体

Table 2. Follicular structure

a) Fundamental data

	Number	Area (μm^2)	Circumference (μm)
Adenoma (n=5)	94.6 ± 51.4	1033.2 ± 2101.7	105.37 ± 63.92
Normal (n=5)	19.4 ± 2.2	6820.7 ± 9806.4	265.66 ± 191.62
Adenomatous (n=5)	21.2 ± 15.2	3809.1 ± 9229.0	185.30 ± 172.55

(magnification: ×500)

b) Shape coefficient and EF-Ratio

	Shape coefficient	EF-Ratio (%)
Adenoma (n=5)	1.15 ± 0.12	68.38 ± 16.72
Normal (n=5)	1.22 ± 0.13	36.56 ± 20.74
Adenomatous (n=5)	1.29 ± 0.25	47.21 ± 24.10

** ($P < 0.01$)

Table 3. Spatial pattern analysis

	Spatial pattern		
	Regular	Random	Cluster
Adenoma	3	0	0
Normal	0	3	0
Adenomatous*	0	0	3

*: magnification: ×35

Table 4. Follicular density

	Number density		Packing density	
	Total (/mm ²)	Large (%)	Total (%)	Large (%)
Adenoma (n=5)	396.5 ± 156.9	1.0 ± 1.3	41.4 ± 31.5	1.9 ± 2.4
Normal (n=5)	74.5 ± 37.7	50.4 ± 12.9	67.3 ± 16.9	25.8 ± 10.7
Adenomatous* (n=5)	66.4 ± 29.4	10.2 ± 1.7	81.8 ± 8.3	64.7 ± 20.8

*: magnification: ×35

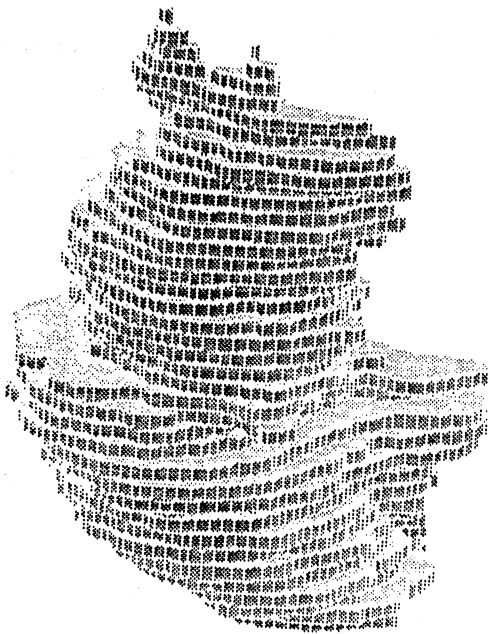


Fig. 4. Three dimensional reconstruction

像としての濾胞の空間配置および密度を用いた解析を行い、さらに腺腫様甲状腺腫では3次元解析としての濾胞の立体再構築像を検討することにより、平面における濾胞像の観察所見の裏付けを行った。

濾胞構造の検討では、正常例の濾胞長径は $100.14 \pm 70.95 \mu\text{m}$ の値を示し、Fawcett,¹⁴⁾ 藤田ら¹⁵⁾ の結果 ($20 \sim 900 \mu\text{m}$) とほぼ一致した。腺腫は正常組織に比べ、濾胞面積は約 $1/6$ 、濾胞周長は約 $1/2$ と小さい値を示した。形状係数 (C) とは、濾胞の面積 (S) と周長 (L) から導かれ、濾胞の形状がどの程度円から離れたものかを示す指標で、 $C = L^2 / 4\pi S$ で定義され、個体の形状が円であるとき形状係数は1となる。腺腫の形状係数は正常組織より1に近く、円に近い形態を示した。これらの値は既に発表した結果^{11), 12)} とほぼ一致した。

また EF 比は濾胞上皮と濾胞腔の割合を示すため定義した指標である。腺腫の EF 比は Table 2 より、 $68.38 \pm 16.72\%$ の値を示し、濾胞上皮の濾胞に占める割合が、正常組織の約2倍も大きいことが判明した ($P < 0.01$: Wilcoxon の順位和検定)。このことは、EF 比

が正常濾胞と腺腫のそれとを形態学的に区別する上で重要な所見の一つであることを示すが、それが腫瘍化による単なる形態学的変化に基づくものか、あるいはコロイドの生成、分泌、貯留等の機能的変化に伴ったものか否かは明らかではない。これらの指標を用いて腺腫の濾胞形態をより詳細に解析することによって、そのサブタイプの鑑別も可能となるものと思われる。

これに対し、腺腫様甲状腺腫は正常組織に比べ、濾胞数、形状係数、EF 比に関し非常に大きなバラツキを示した。特に形状係数は3者のうちで最も大きな値を示し、かつバラツキも最も大きかった。これは腺腫様甲状腺腫における濾胞形状の多様性の客観的示現の一つであると思われる。したがって腺腫と腺腫様甲状腺腫の比較には、特に EF 比と形状係数が明瞭な指標となることが明らかとなった。

実際の組織学的観察においてはこれらの個々の濾胞形態に関する観察とともに低倍率における標本の組織の全体像の検討が必要とされる。組織の全体像の数量化を目的として、濾胞の空間配置と密度を用いた解析を行った。空間配置の検討に際し、基礎研究として、500倍の倍率における検討を行ったところ、3者の間に有意な差はみられなかった。しかしながら75倍の倍率では、腺腫における濾胞の空間配置は規則型の配置を示し、正常甲状腺におけるランダム型の空間配置とは全く異なった配置を示した。これに対し腺腫様甲状腺腫ではランダム型と集塊型が混在した配置を示したため、35倍の倍率で切片全体の検討を行ったところ、全例とも集塊型の配置を示すことが証明された。

このような倍率の変化に伴う濾胞配置の違いはサンプリングサイズの影響によるものと思われる。3者に共通するサンプリングサイズの設定が必要である。しかしながら今回の検討では腺腫様甲状腺腫の濾胞配置が強い集塊型の配置を示したため、結節全体を測定領域とせざるを得なかった。今後の検討では、このようなサンプリングサイズの影響を除外しうる新しいサンプリング法の確立が必要と思われる。

濾胞密度の検討では、腺腫の面積密度は全濾胞、大型濾胞の両者ともそれぞれともに41.4%、1.9%と正常組織の67.3%、25.8%に比べ低値を示した。また個数密度では全濾胞は単位面積当たり $396.5/\text{mm}^2$ と正常組織の $74.5/\text{mm}^2$ に比べ高値を、大型濾胞は1.0%と正常組織の50.4%に比べ極めて低値を示し、小型濾胞の密集した組織像をよく反映した結果となった。

これに対し、腺腫様甲状腺腫の濾胞密度は正常組織に比べ全濾胞、大型濾胞ともに面積密度は81.8%、64.7%と高値を、個数密度は $66.4/\text{mm}^2$ 、10.2%と低値を示し、どちらの指標も正常組織との比較において、大型濾胞のみの検討は全濾胞に関する検討よりも腺腫様甲状腺腫の組織学的特徴をより鮮明に反映した結果となった。

すなわち、濾胞密度を検討する場合、腺腫においても、腺腫様甲状腺腫においても大型濾胞に着目すると、全濾胞よりもそれぞれの組織学的相違がより明確にあらわされ、特にその面積密度の検討は両者の鑑別診断に有用であると思われた。

これらの平面上、すなわち2次元的に示された濾胞の病理学的特徴の意味づけを3次元解析により行うため腺腫様甲状腺腫での濾胞の立体再構築を行った。その結果、大型濾胞はその周囲に、娘濾胞とも言うべき小濾胞状の突出を数個有していることが判明した。娘濾胞の存在は、Millerの結節¹⁶⁾を始めとする濾胞の過形成を示すもの¹⁷⁾と思われ、平面像でみられた濾胞の面積、周長は大きなバラツキを示し、形状も様々であり、組織の全体像は集塊型の配置を示すといった腺腫様甲状腺腫の病理学的特徴

の主因をなすものと思われる。

以上、組織像の計量化による腺腫と腺腫様甲状腺腫との鑑別は各々の濾胞形態の解析による程度可能であったが、両者の結節の全体像を解析する目的で行った濾胞の密度および空間配置の解析により、さらに明確なものとなった。また腺腫様甲状腺腫では立体再構築を行い、その組織学的特徴を3次元的に把握し得た。しかしながらいまだ両者の典型例を使用して差異を認めた初歩的検討に過ぎず実用的段階とは言い難い。将来病理学的診断手順そのものの順序で計量化し、より人の目に近い指標を用い、多変量解析等により、どのような症例でも鑑別しうるような実用的段階にまで達成せしめたい。

結 語

組織学的に近似性のある、甲状腺腺腫と腺腫様甲状腺腫の鑑別を組織像の計量化により試みた。両者の鑑別には、濾胞形態の解析では、特に形状係数とEF比が、組織の全体像の解析では、濾胞の空間配置と密度が、ともに差が認められて有効な指標であった。さらに腺腫様甲状腺腫では立体再構築を行い、その病理学的特徴を3次元的に証明し得た。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜った原田種一教授に対し深甚なる謝意を捧げるとともに、研究にあたり、常に適切なご指導を頂いた川崎医科大学数学教室 有田清三郎助教授に深謝致します。また研究に協力して頂いた当教室員及び電子顕微鏡センターの各位に対し感謝致します。さらに標本の提供に御協力頂いた香川医科大学法医学教室 井尻 巖教授に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 下里幸雄: 甲状腺. 石川栄世, 牛島 宥, 遠城寺宗知編: 外科病理学. 第1版. 東京, 文光堂. 1984, pp. 237-266
- 2) 藤本吉秀: 甲状腺腫瘍—特集/甲状腺疾患の診断と治療—. ホルモンと臨 27: 1251-1257, 1979
- 3) Meissner, W. A. and Warren, S.: Tumors of the thyroid gland. 2nd ed. Washington, D. C., Armed Forces Institute of Pathology. 1969, pp. 43-50
- 4) Byth, K. and Ripley, B. D.: On sampling spatial patterns by distance method. Biometrics 36: 279-284, 1980

- 5) 有田清三郎：神経線維の空間パターン解析について。行動計量学 12：53—58, 1984
- 6) 高橋良延, 仁尾正記, 岩間憲行, 松浦昇, 高橋徹, 伊藤正純：3次元再構成へのコンピューター画像処理の応用。病理と臨 3：573—578, 1985
- 7) 馬場謙介, 木村一元, 宮本潔, 岡安貞治, 木村園恵, 神崎可也：形態計測 (I) —概説。細胞 9：378—385, 1976
- 8) 種村正美, 尾形良彦：点の空間配置パターンを測る—なわばりの生態学—。数理科学 213：11—16, 1981
- 9) 手塚文明：心筋のモルフォメトリー—とくに方向性のある構造物の取扱い—。病理と臨 4：166—171, 1986
- 10) Boon, M. E., Trott, P. A., Kaam, H., Kurver, P. J. H., Leach, A. and Baak, J. P. A.: Morphometry and cytodagnosis of breast lesions. Virchows Arch. [A] 396: 9—18, 1982
- 11) 中村清美, 有田清三郎, 原田種一：甲状腺腺腫と腺腫様甲状腺腫の濾胞腔の計量学的解析。臨病理 34：206—210, 1986
- 12) 山根康彦, 有田清三郎, 片桐誠, 原田種一：甲状腺単純性腺腫における濾胞構造の計量化への試み。臨病理 35：689—692, 1987
- 13) 山根康彦, 有田清三郎, 片桐誠, 原田種一：甲状腺濾胞腺腫と腺腫様甲状腺腫における組織所見の計量的解析。臨病理 36：1988 (掲載予定)
- 14) Fawcett, D. W.: A textbook of histology. 11th ed. Philadelphia, W. B. Saunders Company. 1986, pp. 500—511
- 15) 藤田尚男, 藤田恒夫：標準組織学。第1版。東京, 医学書院。1976, pp. 262—272
- 16) Miller, J. M.: The autonomous functioning thyroid nodule in the evolution of nodular goiter. J. clin. Endocrinol. 27: 1264—1274, 1967
- 17) 藤本吉秀：甲状腺の臨床—新しい疾患概念と治療指針—。東京, 中外医学社。1968, pp. 196—207