

当院における液状化検体細胞診法の導入効果

曲 師 妃 春¹ 金 丸 絃 弓¹ 知 野 麻 依¹ 竹 内 正 喜¹
 長 尾 一 弥¹ 菊 地 智 樹² 小 幡 雅 彦²

Key Word: 細胞診, 従来法, 液状化検体細胞診法

はじめに

細胞診標本の作製は、採取細胞を直接スライドガラスに塗抹し95%アルコール固定を行う直接塗抹法(以下、従来法とする)が長きにわたり使用されてきた。しかし1990年代後半より採取器具から細胞保存液内に細胞を回収し、その後専用スライドガラスに塗抹を行う液状化検体細胞診法(Liquid Based Cytology法;以下、LBC法と略す)の手法が日本でも確立・普及してきており、現在は細胞診のみならず遺伝子検査等に応用されるなど、その用途も拡大傾向にある。

当院でもLBC法を導入し約3年が経過した。その導入効果を長所・短所の観点から報告する。

シュアパスTM液状処理細胞診システムのサイトリッチTMレッド保存液(産婦人科以外の領域)と、BDシュアパスTMコレクションバイアル(口腔外科領域)を採用し、手作業で標本作製を行う方法(以下、用手法)にて標本作製を行っている。

2017年1月～12月までの細胞診検体数割合は産婦人科検体が細胞診全体の約55%と半数以上を占めたため、LBC法の対象検体割合は38%に留まった(図1)。しかしながら2016年と2017年の比較では対象検体数は増加傾向にあり、特に胆汁・膵液検体の増加が際立っている(図2)。今後も非産婦人科検体の増加が見込まれ、LBC法での細胞診断が増えていくものと推測される。

当院の状況

2015年5月よりLBC法を導入した。産婦人科以外のほぼ全ての検体を対象に、従来法とLBC法を併用した標本作製を行っており、LBC法単独での運用は行っていない。なお使用試薬は、日本バクトン・ディッキンソン株式会社のBD

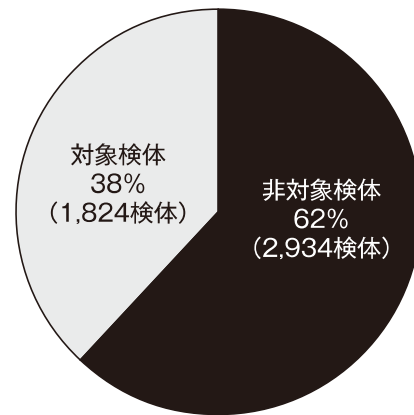


図1: LBC法対象検体割合

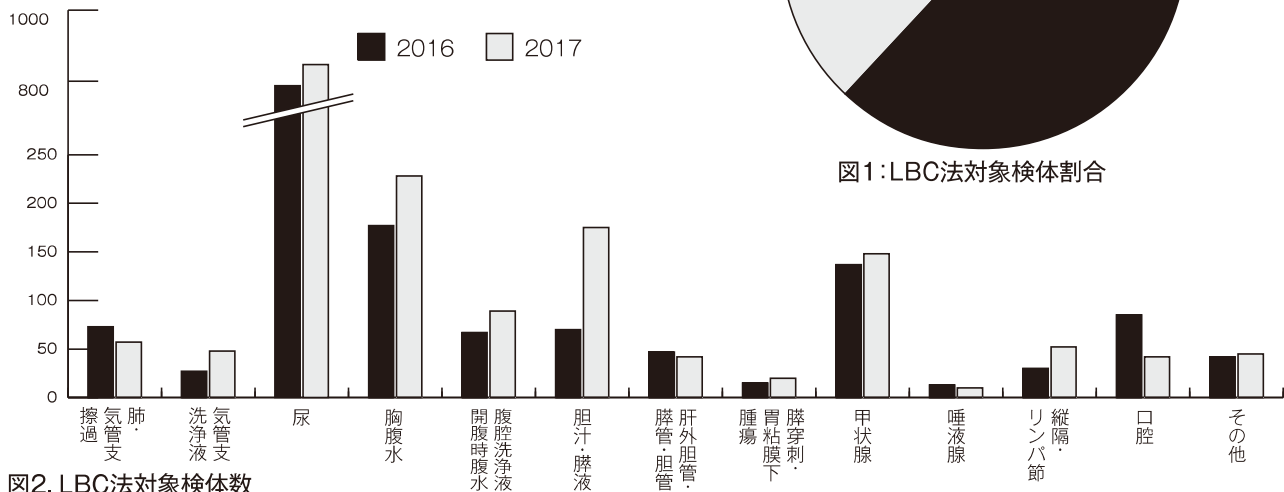


図2: LBC法対象検体数

医療技術部病理課¹ 病理診断科²

Introduction Effect of Liquid Based Cytology in our Hospital

Kiharu MAGESHI¹, Hiromi KANAMARU¹, Mai CHINO¹, Masayoshi TAKEUCHI¹, Kazuya NAGAO¹
 Tomoki KIKUCHI², Masahiko OBATA²

I 方 法

従来法とLBC法間で、主な組織型の細胞像の比較を行った。

II 結 果

1. 扁平上皮癌(肺擦過検体;写真1)

細胞配列に関して標本作製法間で違いは見られないが、従来法では細胞集塊の辺縁に乾燥による膨化が見られた。角化型扁平上皮癌の場合は、核所見に有意な差は見られないのに対し、非角化型扁平上皮癌の場合は、従来法で核クロマチンが細顆粒状を示していたのに対して、LBC法では核クロマチンの不均等分布や核縁の肥厚、核小体の明瞭化などが認められた。

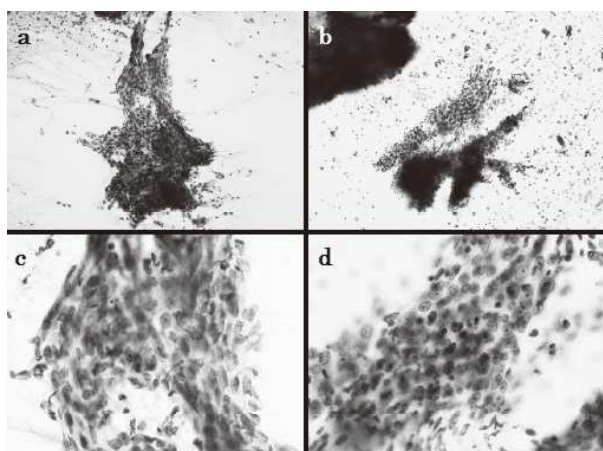


写真1. 扁平上皮癌, 非角化型(肺擦過検体)
a:従来法 対物10倍, b:LBC法 対物10倍,
c:従来法 対物40倍, d:LBC法 対物40倍

2. 腺癌(肺擦過検体;写真2)

従来法では核に切れ込み・くびれが見られ、細胞質が淡く平面的であった。LBC法では核に緊満感があり、細胞質も丸みを帯びて厚みが増し細胞集塊が凝集化したため、より重積性が増したように感じられた。

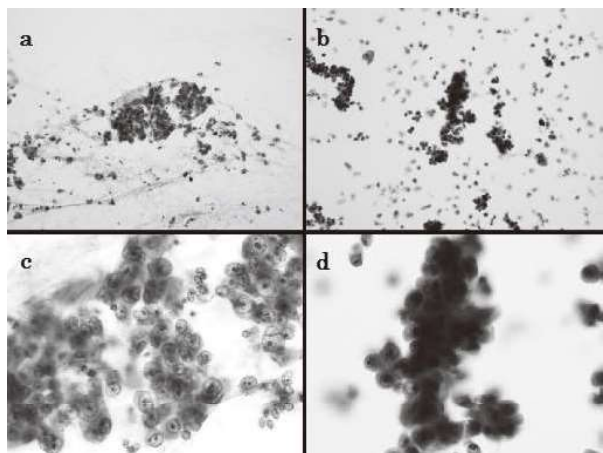


写真2. 腺癌(肺擦過検体)
a:従来法 対物10倍, b:LBC法 対物10倍,
c:従来法 対物40倍, d:LBC法 対物40倍

3. 小細胞癌(肺擦過検体;写真3)

従来法では核クロマチンは微細顆粒状～粗顆粒状を示し茶褐色調を呈しているが、LBC法では核クロマチンが濃縮し、詳細な核クロマチンパターンが分かりにくい状態であった。また細胞の大きさは従来法とLBC法では著しく異なり、従来法に比較しLBC法では核も含め全体的に収縮・凝集しているため、細胞の大きさがより小型化して見られた。

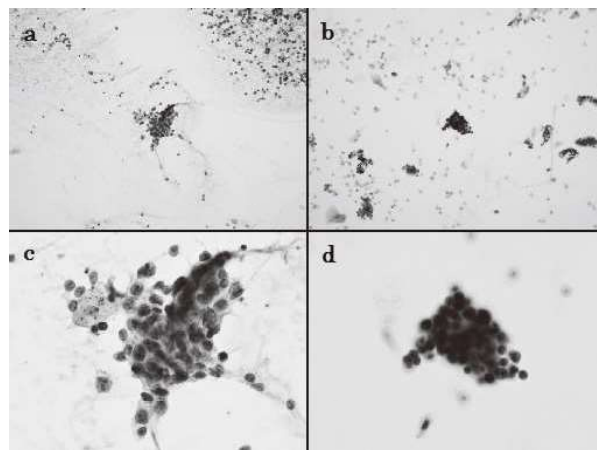


写真3. 小細胞癌(肺擦過検体)
a:従来法 対物10倍, b:LBC法 対物10倍,
c:従来法 対物40倍, d:LBC法 対物40倍

4. 尿路上皮癌, G3(自然尿;写真4)

オートスミアの塗抹面積(14mm×14mm)とLBCの塗抹面積(直径13mmの円)に大きな差はないものの、明らかに従来法に比べLBC法の方が多くの細胞が塗抹されていた。LBC法では、核は濃縮傾向を示していた。

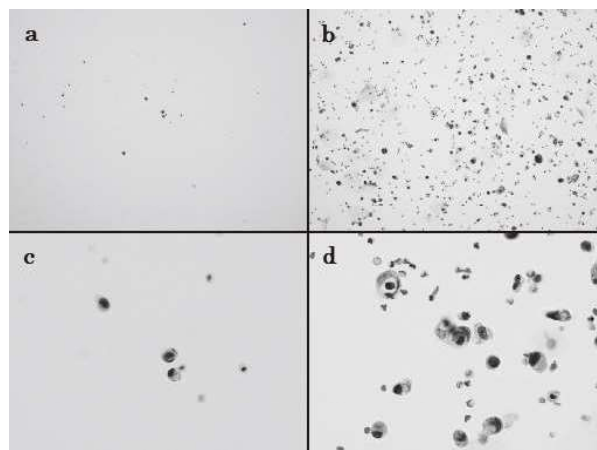


写真4. 尿路上皮癌, G3(自然尿)
a:従来法 対物10倍, b:LBC法 対物10倍,
c:従来法 対物40倍, d:LBC法 対物40倍

5. 尿路上皮癌, G3(膀胱洗浄尿;写真5)

従来法では複数の明瞭な核小体を持つことや核縁の肥厚、粗顆粒状のクロマチンパターンを観察することが可能であった。LBC法では核が濃縮し、細胞集塊の凝集化が

起こり重積性が増したため、詳細な核所見の観察は困難となった。

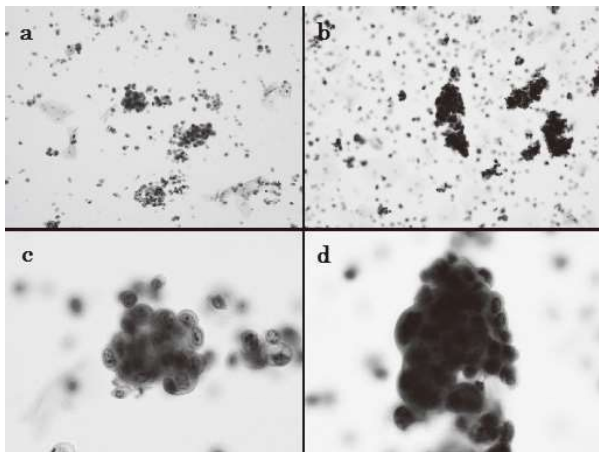


写真5. 尿路上皮癌, G3(膀胱洗浄尿)
a:従来法 対物10倍, b:LBC法 対物10倍,
c:従来法 対物40倍, d:LBC法 対物40倍

6. 甲状腺乳頭癌(甲状腺穿刺吸引検体;写真6)

従来法では乳頭状細胞集塊などの立体的な組織構造が分かりやすく見られたが, LBC法ではシート状細胞集塊として出現することが多く, 中心に血管軸を伴う土管状の細胞集塊として見られることもあった。また乳頭癌に特徴的な核内細胞質封入体や核溝, すりガラス状核はLBC法では見られることが少なくなり, 代わりに好酸性を呈する核小体の明瞭化が起っていた。

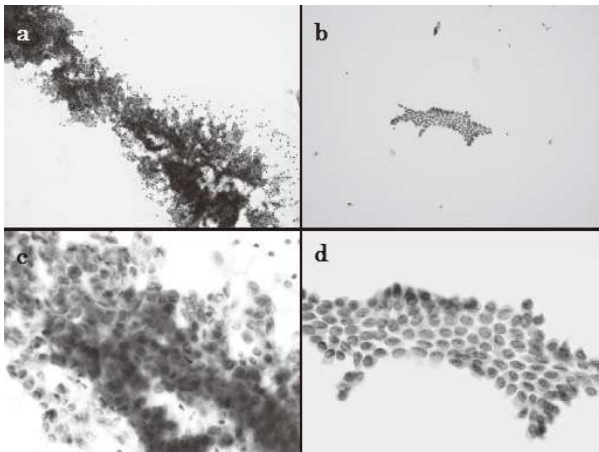


写真6. 甲状腺乳頭癌(甲状腺穿刺吸引検体)
a:従来法 対物10倍, b:LBC法 対物10倍,
c:従来法 対物40倍, d:LBC法 対物40倍

7. びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(腹水;写真7)

従来法では結合性のない裸核状の細胞が散在性に出現し, 核の大小不同や核クロマチンの不均等分布, lymphoglandular bodiesが背景に認められた。LBC法では細胞の重積性は見られず均一に塗抹されているが, 強拡大で見ると細胞が扁平化し辺縁が不鮮明で, 多くは細胞崩壊に陥った状態で塗抹されており, 細胞形態の観察は困難であった。

標本作製法間で形態学的な差異が顕著でない腫瘍があ

る一方, 著しい形態変化を来し得る組織型もあることが分かった。また一般的に, 従来法に比べLBC法では背景成分(壊死物質・赤血球など)の減少と細胞収縮に加えて, 上皮細胞や大型細胞集塊の塗抹量が増加する傾向が見られた。

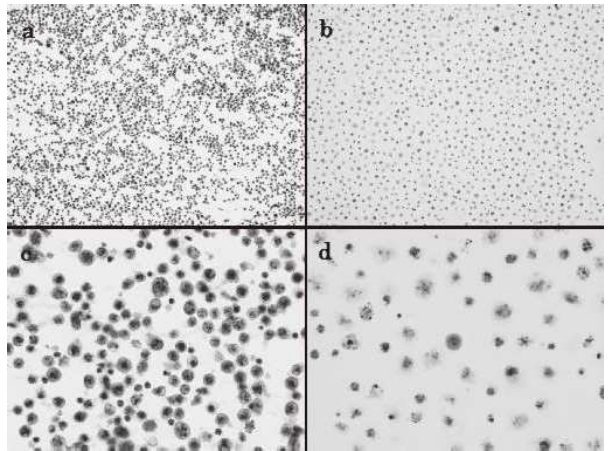


写真7. びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(腹水)
a:従来法 対物10倍, b:LBC法 対物10倍,
c:従来法 対物40倍, d:LBC法 対物40倍

III 考 察

1. LBC法の利点

以下にLBC法の利点を列挙する。

- (1) 細胞塗抹範囲が限られ, かつ細胞重積性が少なく乾燥の見られない上皮細胞が選択的に塗抹される。このため標本1枚当たりの鏡検時間が短縮し, 効率の良いスクリーニングが可能である。
- (2) 血液含有量が多い検体は多量の赤血球に埋もれ, 本来目的とする細胞の鏡検が困難な場合があるが, サイトリッチ™レッド保存液には溶血作用がある。このため細胞形態を保持しつつ, 余分な赤血球の除去が可能である。
- (3) 標本作製時に細胞が剥離する原因の一つとして, 標本を固定液に入れた時に生じる固定液とスライドガラス上の細胞との抵抗が関与し, 大型細胞集塊はより固定液との抵抗が大きいため剥離しやすいとの報告がある¹⁾。LBC法専用スライドガラスは, 通常のスライドガラスに比べ吸着性が高いため剥離する細胞が少なく, LBC法では診断に有益な大型細胞集塊が塗抹されていると推測される。
- (4) 尿検体では尿中の蛋白濃度が極めて低いため, 尿中細胞のスライドガラスへの付着率が極めて低いとされており²⁾, 検出率を上げるため各々の施設で工夫を凝らし標本作製を行っているのが現状である。尿検体を用いた土田らの検討によると, 上皮細胞数は従来法と比較するとすべてのLBC法で多く塗抹される³⁾と報告しており, 当院でも特に尿検体においてLBC法のみ異型細胞が塗抹されていることをしばしば経験している。これは標本作製過程中, 細胞を自然沈降させる

工程で、陰性荷電した上皮細胞が、陽性荷電されている専用スライドガラスへの吸着が起こるといふBDサイトリッチ™法の原理によるものと考えられる。この電氣的結合に基づくスライドガラスへの細胞塗抹量増加により、尿検体における異型細胞検出率の上昇（偽陰性の減少）が期待される。

- (5) 検体保存が室温で可能であるため検体処理をまとめて行えることや、後からセルブロックの作製、免疫細胞化学染色や遺伝子検査への応用などが可能である。

2. LBC法の問題点

以下にLBC法の問題点を挙げる。

- (1) 細胞診においては背景所見も重要な要素であるが、赤血球・壊死物質・細菌などが少なく塗抹され、症例によっては全く塗抹されない場合もある。このため、細胞形態のみから標本を読み解く必要がある。
- (2) 従来法とLBC法で細胞の大きさに差はないとの報告もあるが³⁾、一般的なLBC標本での細胞像の特徴として、細胞の小型化やクロマチンパターンの変化、細胞集塊の凝集化傾向、壊死性背景が分かりにくい点⁴⁾もあり、鏡検トレーニングが必要である。前述したように細胞凝集や重積性の上昇、核クロマチンの濃縮などにより核内所見が見にくくなることや、核が黒く強調されてしまうため異型が強く感じられてしまうこと、クロマチンパターンが異なることなど、主に核所見に対する変化が強く感じられた。
- (3) 悪性リンパ腫の場合でもLBC法が有用であった報告⁵⁾もあるが、当院で経験した悪性リンパ腫症例では細胞形態の保持がほぼ困難であった。このため事前に臨床情報がある際には、従来法および乾燥固定によるGiemsa染色を優先し標本作製を行うべきである。
- (4) 残念ながら2018年の診療報酬改定でも尿検体はLBC法での保険点数加算の対象外となっており、コストがかかっている。

3. 用手法の問題点

LBC導入の際には、用手法か自動標本作製機の導入かをまず考えなければならない。当院では細胞診検体数とスペース確保の問題などから、用手法を導入した。実際に導入してみると、自動標本作製機ほどスペースは必要としないものの、多くの検体が一度に提出された場合や、検体が相次いで提出された場合に作業スペースが狭く、検体の取り違いや破損等が起きる危険性が生じた。このため検体処理作業スペースを改装し、ある程度の作業スペースの確保を行った。

また当院は技師が細胞診専従ではなく他の業務も兼任しているため、用手法での検体処理工程の中で複数の技師が携わることがある。複数の技師が関与すると同一患者で複数検体が提出される場合や、患者の名字が同一あるいは類似している場合に検体の取り違いが起こる危険性がある。これらは標本作製におけるISO15189に準拠した標準操作手順書の作成や、技師同士のコミュニケー

ションをしっかりと取ることで医療事故のリスク回避を図っている。

IV 結 語

LBC法では細胞形態が従来法と異なるため鏡検トレーニングを必要とし、コスト面等の問題もゼロではない。しかし偽陰性の減少による診断精度の向上が期待され、スクリーニングをより効率よく行えるという細胞検査士の業務改善の観点からも、非常に優れた標本作製法であると考えられる。

本研究は、2017年度第2回旭川細胞研究会にて発表した。

申告すべきCOI状態はない。

文 献

- 1) 土田秀 他: 液状化細胞診を用いた尿細胞診の検体処理法の検討, 日本臨床細胞学会雑誌, 第52巻第5号, 406-410, 2013.
- 2) 西国広(編): ~基礎から学ぶ~細胞診のすすめ方, 10-11, 近代出版, 大阪, 2012.
- 3) 金城満 他: 尿のLBC, 臨床検査, vol.58, no.6, 693-701, 2014.
- 4) 南口早智子: LBCの利点と問題点, 臨床検査, vol.58, no.6, 670-676, 2014.
- 5) 成富真理 他: 尿細胞診でLBC法が有用であった悪性リンパ腫の1例, 日本臨床細胞学会雑誌, 第53巻第3号, 235-240, 2014.