

研究

子宮頸部細胞診の採取法および標本作製法による
比較検討

富澤一与、尾身麻理恵、星川里美、細井京子、萩原 勉、伊藤秀明
前橋赤十字病院 病理診断科

**A comparative study of the uterine cervical smears by sampling methods
and preparation methods.**

要旨

子宮頸部細胞診について、綿棒擦過とブラシ擦過による細胞採取法を比較し、また直接塗抹法と液状処理法(Surepath、ThinPrep)による標本作製法を比較検討した。不適正標本の判定は、ベセスダシステム 2001 の基準に従い、陽性率、鏡検時間、標本作製費用および細胞像について検討した。採取器具による比較では、ブラシ擦過では綿棒擦過に比べ、全ての項目で不適正率が明らかに低値であった。標本作製法による比較では、液状処理法が陽性細胞の検出率、鏡検時間の短縮で有用であったが、標本作製費用は非常にコスト高となる。また、細胞像については、直接塗抹法と液状処理法では若干の相違があり、液状処理標本を評価するための訓練が必要と考える。

Kazuyo Tomizawa et al:ISSN 1343-2311 Nisseki Kensa 42:44-49,2008(2009.1.25 受理)

KEYWORDS

**Cervical cytology、Cotton swab、Cervex brush、
Conventional method、Thinlayer method**

【目的】

子宮頸部細胞診は子宮頸部腫瘍性病変の早期発見に有効な検査法として広く行われているが、細胞量の不足や細胞の乾燥などに起因する不適正標本にしばしば遭遇する。一方、精度管理向上のための標本作製方法の標準化も求められているが、直接塗抹法による標本は、個人差、施設間差が大きく標準化が難しいのが現状である。今回、子宮頸部細胞診において、綿棒擦過とブラシ擦過の細胞採取方法別の比較と、直接塗抹法と液状処理法による標本作製法の比較検討を行った。

【方法】

平成 19 年から 20 年に当院を受診した検診および外来患者を対象とした。採取器具によ

る比較では、綿棒擦過 86 例、Cervex ブラシ擦過 100 例について比較した。(Table 1)標本作製法による比較では、ブラシ擦過による直接塗抹標本と、同一標本でブラシに残存した細胞を液状処理法で処理した split sampling 標本 309 例を比較した。また同時に Surepath 法: Tripath 社(MBL) 214 例と ThinPrep 法: CYTEC 社(OLYMPUS) 95 例について、液状処理 2 法の比較も行った。比較方法は、標本の適否については、①細胞量 ②移行帯由来細胞の有無 ③標本乾燥(ベセスダシステム 2001 準拠)¹⁾ の評価を行い、鏡検時間、陽性細胞の検出率、標本作製費用についても検討した。また、直接塗抹標本と液状処理標本の細胞像の比較も行った。

Table1 対象と方法

対象: 検診および外来患者
 ①直接塗抹法における採取器具による比較
 綿棒擦過86例、ブラシ擦過100例
 ②標本作製法による比較
 直接塗抹法(ブラシ擦過)309例
 液状処理法(split sampling)309例
 Surepath: Tripath社; MBL
 ThinPrep: CYTEC社; OLYMPUS

方法: 標本の適否
 検討項目: ①細胞量
 ②移行帯由来細胞の有無
 ③標本乾燥
 (ベセスダシステム2001準拠)

鏡検時間
 陽性細胞の検出率
 標本作製費用
 細胞像

様の単層標本として塗抹され、鏡検範囲は直径 20mm の円となる。(Fig3)



Fig2 標本作製法 (液状処理法)

I : 採取器具

綿棒と Cervex ブラシを使用した。Cervex ブラシの材質は軟らかいラバー製で、中央部の突起と横に広がった特殊な構造をとっており、十分量の細胞採取が可能で、実際に塗抹した標本での採取量を示す。(Fig1)



Fig1 直接塗抹法における採取器具による比較

II : 標本作製法 (液状処理法)

Surepath は、プラス・マイナスの荷電と遠心分離を利用した密度勾配法の原理で自動塗抹染色装置: PREPSTAIN にて標本作製する。採取された細胞は均一で、細胞の重なりが少ない単層標本として塗抹され、鏡検範囲は直径 13mm の円となる。(Fig 2)

ThinPre p は、フィルターの回転で細胞を均一に攪拌し、膜に吸着、スライドガラスに転写する方法で、自動塗抹装置: Shinprep2000 processor にて標本作製する。Surepath と同



Fig3 標本作製法 (液状処理法)

III : 比較基準

不適正標本は、ベセスダシステム 2001 の基準に従い、以下①②③のいずれかに該当するもので、単項目または重複項目となる。標本全視野で、①扁平上皮細胞数は、直接塗抹は 8000 個未満、液状処理は 5000 個未満、②移行帯由来細胞は、10 個未満、③標本乾燥は判定不能部分 75%以上を占めるものとした。陽性例は Class III 以上とする。鏡検時間は、1 症例あたりに要する時間で、綿棒は陰部 1 枚、頸部 1 枚で合計 2 枚、ブラシは陰部・頸部同時採取で 1 枚に要する時間とする。費用は 1 検体作製に要する費用で、自動塗抹装置価格は含まれない。(Table2)

Table2 比較基準

1. 不適正標本(ベセスダ2001準拠)
 - ①②③のいずれかに該当するもの
(単項目または重複項目)
 - ①扁平上皮細胞数:直接塗抹は8000個未満
液状処理は5000個未満
 - ②移行帯由来細胞:10個未満
 - ③標本乾燥:判定不能部分75%以上
2. 陽性例:ClassⅢ以上
3. 鏡検時間:1症例あたりに要する時間
綿棒擦過は標本2枚(陰部・頸部)
ブラシ擦過は標本1枚(陰部・頸部同時採取)
4. 費用:1検体作製に要する費用
(自動塗抹装置価格は含まない)

【結果】

I:採取器具・作製法による標本の不適正率

グラフの青色は綿棒採取による直接塗抹法、エンジ色はブラシ採取による直接塗抹法、黄色はエンジ色と同一検体の液状処理法 Surepath、水色はブラシ採取による直接塗抹法、紫色は水色と同一検体の液状処理法 ThinPrep である。検体不適正率は明らかに綿棒採取による直接塗抹法が全ての項目において高く、液状処理法でやや扁平上皮細胞不足があった。標本乾燥による不適正率は液状処理法では0%であった。液状処理法2社の比較では ThinPrep で若干、移行帯由来細胞量なしが多く見られたが、その他の項目には明確な差は見られなかった。(Fig4)

II:採取器具・作製法による陽性率・鏡検時間・作製費用

陽性例の検出は症例数が少なく厳密な陽性率の比較はできないが、直接塗抹法では検出することが出来なかった ClassⅢ a の症例が、液状処理法では Surepath、ThinPrep 共に2例検出できた。鏡検時間はブラシ採取は標本枚数が直接塗抹法の半分で、さらに、液状処理法は塗抹範囲が狭いためより短縮出来た。標本作製費用は、綿棒直接塗抹法はブラシ直接塗抹法よりもかなり安価であり、液状処理法では非常にコスト高となる。(Fig5)



Fig4 採取器具・作製法による標本の不適正率

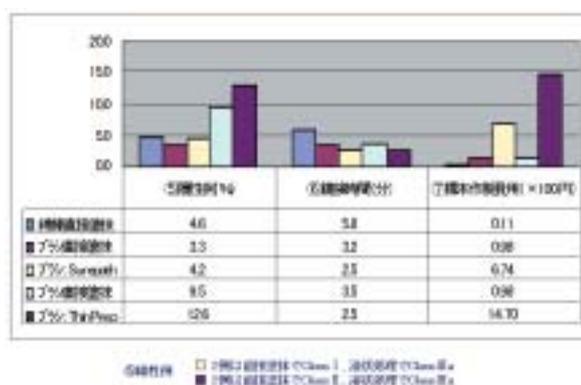


Fig5 採取器具・作製法による陽性率・鏡検時間・作製費用

III:直接塗抹法と Thinlayer 標本の細胞像の比較

直接塗抹法による従来法標本と液状処理法による Thinlayer 標本の細胞像を提示する。

1. 頸管上皮細胞:若干 Thinlayer 標本のクロマチンが淡明で、Surepath でやや融解傾向が見られる。(Photo1)

2. 化生細胞:Thinlayer 標本のクロマチンパターンは頸管上皮細胞と同様で、従来法よりも集塊状に出現する細胞が多い印象を受ける。(Photo2)

3. HPV 感染軽度異形成症例:Thinlayer Surepath 標本は、背景の好中球がかなり取り除かれた見やすい標本で、クロマチンパターンも従来法と同様であった。また、異形成細胞も従来法に比べかなり多数認められた。これは ThinPrep 標も同様であった。(Photo3)

4. 高度異形成症例：Thinlayer、ThinPrep 標本では、背景の好中球がかなり取り除かれており、ロマチンパターンも従来法と同様である。また、従来法では集塊状の異形成細胞は見られなかったが、ThinPrep 標本には認められた。(Photo 4)

5. 扁平上皮癌症例：従来法では、高度出血性背景に、腫瘍細胞が合胞状に出現し、集塊辺縁に角化型癌細胞を認める。血液が多い標本のためクロマチンの判定が困難である。

Thinlayer、Surepath 標本では、背景の赤血球

は取り除かれ見やすい標本となっているがクロマチンは濃縮傾向を示し、合胞状集塊ではクロマチンの増量は分かるが性状は評価しにくい。(Photo 5)

6. 扁平上皮癌症例：従来法は、高度出血性背に壊死を伴い腫瘍細胞が出現している。

Thinlayer、ThinPrep 標本では、背景の赤血球は大部分取り除かれているが、壊死は残渣状に腫瘍に付着して残っており、角化型癌細胞も十分に判定出来る。(Photo 6)

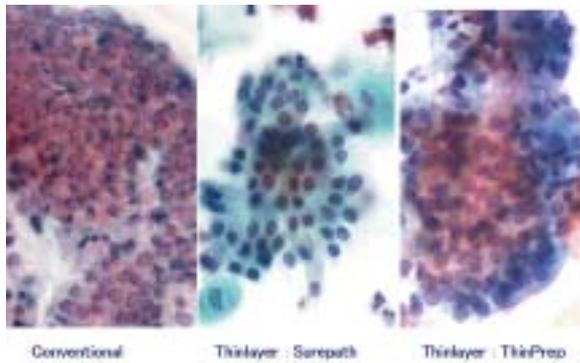


Photo1 Endocervical cells

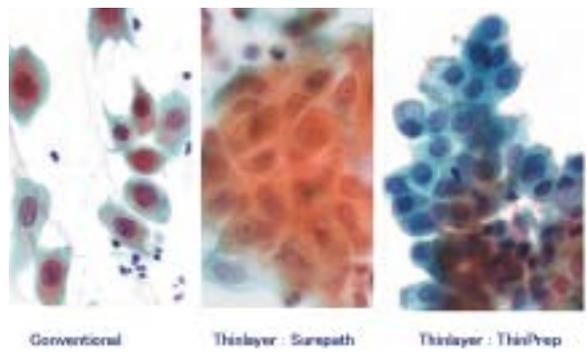


Photo2 Metaplasia

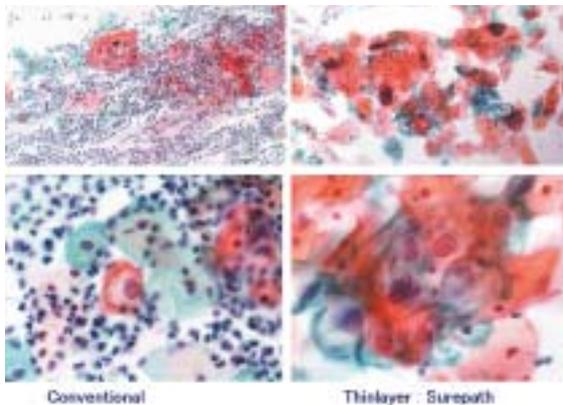


Photo3 LSIL:HPV dysplasia, mild

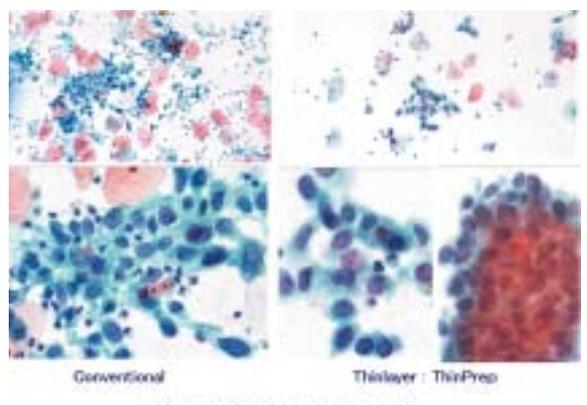


Photo4 HSIL:Severe dysplasia

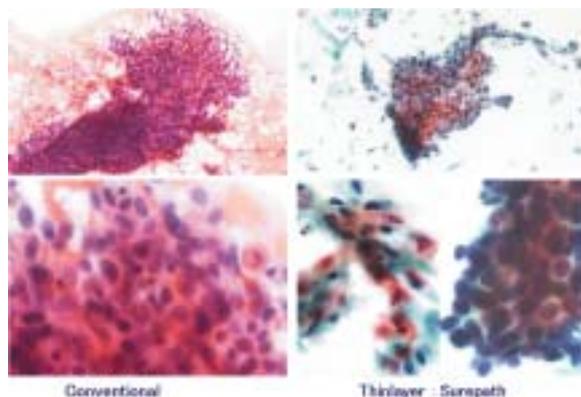


Photo5 Squamous cell carcinoma

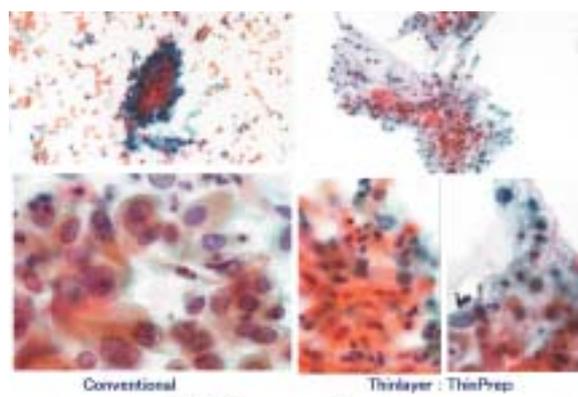


Photo6 Squamous cell carcinoma

【考察】

採取方法による比較では、ブラシ擦過は綿棒擦過に比べ、扁平上皮細胞数、移行帯由来細胞の有無、標本乾燥、全ての項目で不適正率が明らかに低値を示した。綿棒擦過は子宮頸部腫瘍の発生頻度が高い移行帯由来の細胞採取が不十分で、異形成の検出率が低いことが指摘されている。²⁾³⁾ また、頸部の移行帯の位置は若年者では外反し、高齢者では頸管内にあるため、Cervex ブラシは外頸部と内頸部から同時に採取でき、年齢を問わず移行帯由来細胞の採取が可能である。ブラシの単価は綿棒よりかなり高価であるが、今回の検討結果より当院は綿棒採取から Cervex ブラシ採取に変更した。

直接塗抹法と液状処理法では、不適正率には明らかな差は認められなかったが、陽性例の検出において直接塗抹法では検出することが出来なかった Class III a の症例が液状処理法で検出でき、陽性細胞(特に異形成)の検出率の増加や偽陰性率の減少が期待できる。鏡検時間は、液状処理法は直接塗抹法に比べ塗抹範囲が狭く、標本の背景に炎症細胞や赤血球が少ないことから、明らかに時間短縮が出来た。さらに、室温下での長期保存が可能で、同一検体から更に標本作製が可能であり、特殊染色、遺伝子検索(HPV ハイブリッドキャプチャー法)など、今後導入されるであろう新しい診断法への応用に適していると考えられる。反面、液状処理法は標本作製に手間と

時間がかかり、自動塗抹機器の導入費用と共に専用の容器・固定液・スライドガラスの費用などランニングコストが高価のため、導入には経済的な問題が残る。しかし、液状処理法はコスト面を除けば、細胞診の客観性、信頼度の向上に繋がり、近い将来本邦においても必須の手法となる有用な標本作製法と考えられる。

直接塗抹法(従来法)と液状処理法の細胞像の比較では、Surepath(MBL)では、細胞の萎縮傾向や、核クロマチンに淡染化ないし濃縮傾向が見られ、合胞状集塊では細胞判定に苦慮する症例も認められた。そのため、従来法と比較すると細胞所見の評価に違和感があり、液状処理検体用の習熟トレーニングが必要と思われた。ThinPrep(OLYMPUS)では、核クロマチンの淡染化傾向が見られたが、Surepathと比較すると核クロマチンに濃縮が起こらず、直接塗抹法と差がない細胞像を示し、判定は容易であった。ThinPrepの固定液にはメタノールが含まれており、両者のクロマチンの差は固定液の違いによるものと推測される。また、同一症例での、異形成や癌細胞の出現細胞数は、直接塗抹法よりも液状処理法に多く認められた。これは直接塗抹法では、採取した細胞の一部(2割から3割程度)しか塗抹されず、液状処理法ではブラシに残った細胞を全て回収し、均一に塗抹出来るための違いと考えられる。直接塗抹法と液状処理法の細胞像は、細胞の出現形態やクロマチンに違いがあるの

で、慣れないとかなり違和感があり、頸管上皮細胞や化生細胞が分かりづらい傾向がある。液状処理法には訓練プログラムが準備されているので、導入の際には積極的に利用し、細胞判定に習熟する必要がある。

【文献】

- 1) D. Solomon・R. Nayar：ベセスダシステム 2001 アトラス、シュプリンガー・ジャパン、2007
- 2) 赤松節・他：子宮がん集団検診における細胞採取器具の評価、日本臨床細胞学会雑誌 43(3):161～165、2005
- 3) 赤松節・他：子宮がん検診標本の適否状況、日本臨床細胞学会雑誌 44(2):63～68、2005
- 4) 高松潔・他：子宮頸部擦過細胞診におけるモノレイヤー標本の有用性とその将来、日本臨床細胞学会雑誌 40(2):211～215、2001
- 5) 中村博・他：Thinlayer 法とその見方、メディカルテクノロジー 33(3)293～298、2005