

平成28年度 第2回病理・細胞診検査研究班合同研修会 2016/7/30

胸水細胞診におけるセルブロック法の運用経験

東邦大学医療センター佐倉病院
病院病理部 北村 真

平成28年度診療報酬改定

N004 細胞診(1部位につき)

- | | |
|-----------------------|-------------|
| 1 婦人科材料等によるもの | 150点 |
| 2 穿刺吸引細胞診, 体腔洗浄等によるもの | 190点 |
| 3 セルブロック法によるもの | 860点 |

〈セルブロック法についての通知〉

- 「3」の「セルブロック法によるもの」は、**悪性中皮腫を疑う患者に対して**, 穿刺吸引等により採取した検体を用いてセルブロック法により標本作製した場合に算定する。
- 「2」の「穿刺吸引細胞診, 体腔洗浄等によるものによるもの」と「3」の「セルブロック法によるもの」を併せて行った場合は、**主たるもののみ算定する。**

① セルブロック法の必要性

その病気、その症状は

アスベスト

石綿が原因 かもしれません

ご家族に、**肺がん**や**中皮腫**などで
亡くなられた方はいませんか？

息切れ、**胸が苦しい**などの
症状が出ていませんか？

石綿による疾病と認定された場合、各種給付を受けることができます。
お心当たりのある方は、以下の機関にご相談ください。
(※各給付には請求期限(時効)があります。お早めにご相談ください。)

仕事で石綿を取り扱ったことがある方(そのご遺族)

労災保険制度による **労災保険給付** または
石綿健康被害救済制度による **特別遺族給付金**
を受けられる場合があります。

ご相談先

お近くの労働基準監督署・都道府県労働局

☆ お近くの労働基準監督署・都道府県労働局の所在地等のご案内や
労災保険給付と特別遺族給付金に関する一般的なご質問はこちら
でも受け付けています。(※ご利用には通話料がかかります。)

労災保険相談ダイヤル：0570-006031

(平日9:00～17:00)

仕事で石綿を取り扱ったことがない等の理由で
労災保険等の給付を受けられない方(そのご遺族)

石綿健康被害救済制度による **救済給付**
を受けられる場合があります。

ご相談先

独立行政法人 環境再生保全機構 (ERCA)

フリーダイヤル：0120-389-931

(平日9:30～17:30)

平成18年3月27日

石綿健康被害救済法 施行

【対象者】

労災補償等による救済の
対象とならない者

【指定疾病】

- 1) **中皮腫**
- 2) 石綿による肺がん
- 3) 著しい呼吸機能障害
を伴う石綿肺
- 4) 著しい呼吸機能障害
を伴う石綿によるび
まん性胸膜肥厚

石綿健康被害救済制度 医学的判定の考え方

細胞診断による申請時の留意事項

- ◎可能な限りパパニコロウ染色標本(セルブロック標本の場合はHE染色標本)を提出すること
 - 形態学的特徴(他疾患との鑑別所見を含む)と免疫染色の結果を詳細に記載すること
 - 免疫染色は病理組織診断に準じて実施すること
 - 1)陽性抗体〔calretinin,WT1,D2-40〕, 陰性抗体〔CEA,TTF-1,NapsinA,PE10〕をそれぞれ2抗体以上確認することが**必須**
 - 2)Glut-1やEMA, desminによる反応性中皮細胞との鑑別
 - 体腔液検体に対して多数の免疫染色を行うためにはセルブロック法や細胞転写法が有用である
- ※ 細胞診断結果を医学的判定に用いることができるのは上皮型・二相型中皮腫に限られる

中皮腫の細胞所見

- 背景のヒアルロン酸様物質
- 球状・乳頭状集塊
- Collagenous stromaを有する集塊
- 細胞相接所見
- 相互封入像
- Hump様細胞質突起
- 細胞質の重厚感
- 細胞辺縁不明瞭
- オレンジG好性細胞
- 核中心性・類円形・均一感
- 多核細胞の出現数が多い
- 軸対称性2核細胞
- 多核の花弁状配列

・・・実際の検査においては、判定に苦慮することがしばしばあり、免疫染色による鑑別が必要となる

② 各種セルブロック法

セルブロック作製法

細胞固定化法

- 寒天法
- 血液凝固因子法
- グルコマンナン法
- アルギン酸ナトリウム法

遠心分離集細胞法

- コロジオンバッグ法
- 試験管法
- クライオバイアル法
- エッペンドルフチップ法

血液凝固因子法(血漿トロンビン法)

塗沫後の沈渣を2滴マイクロチューブに移す



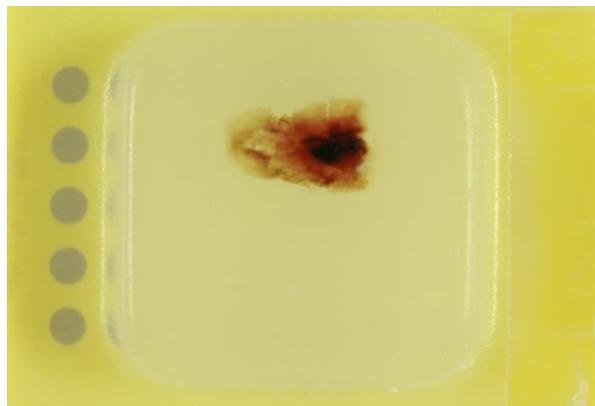
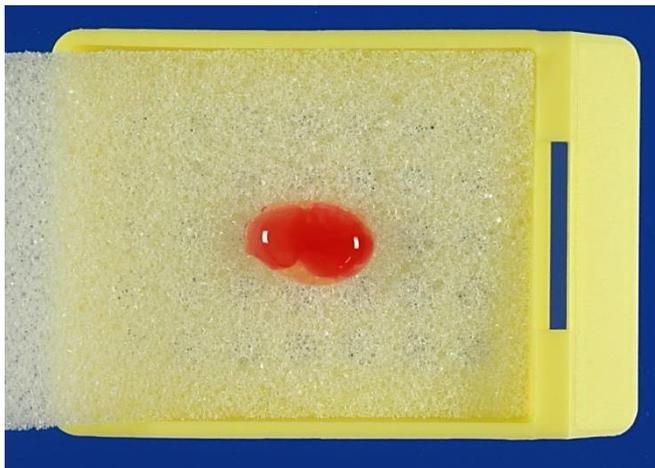
200 μ lの血漿を加えて軽くミキサーで混和



50 μ lのトロンビンを加えて5分間静置



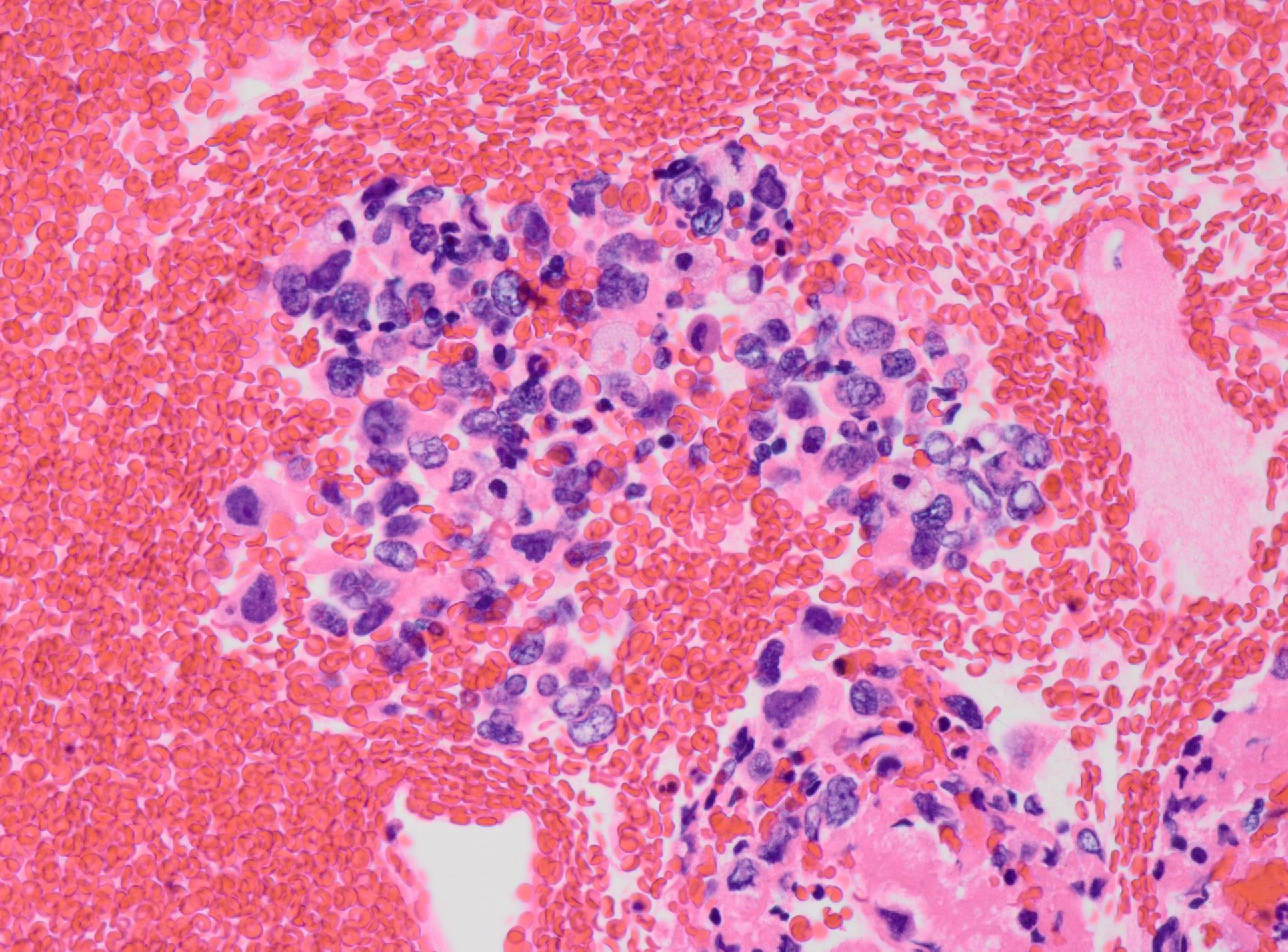
ゲル化した沈渣をホルマリン固定



新鮮凍結血漿



トロンビン液



グルコマンナン法

塗沫後の沈渣をスピッツ内でホルマリン固定



遠心[3,000rpm・3分], 上清を除去



メタノールを1~5ml加え, 遠心後, 上清を除去



カセット内の型に沈渣を入れる

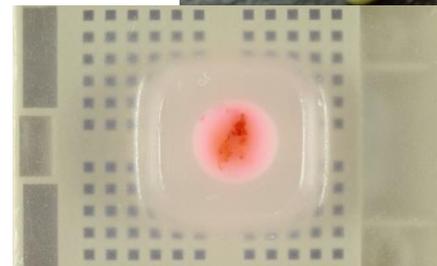
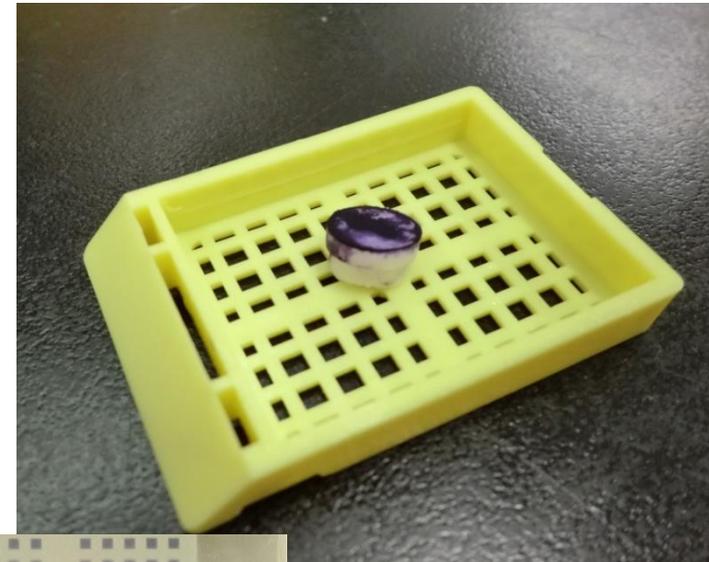


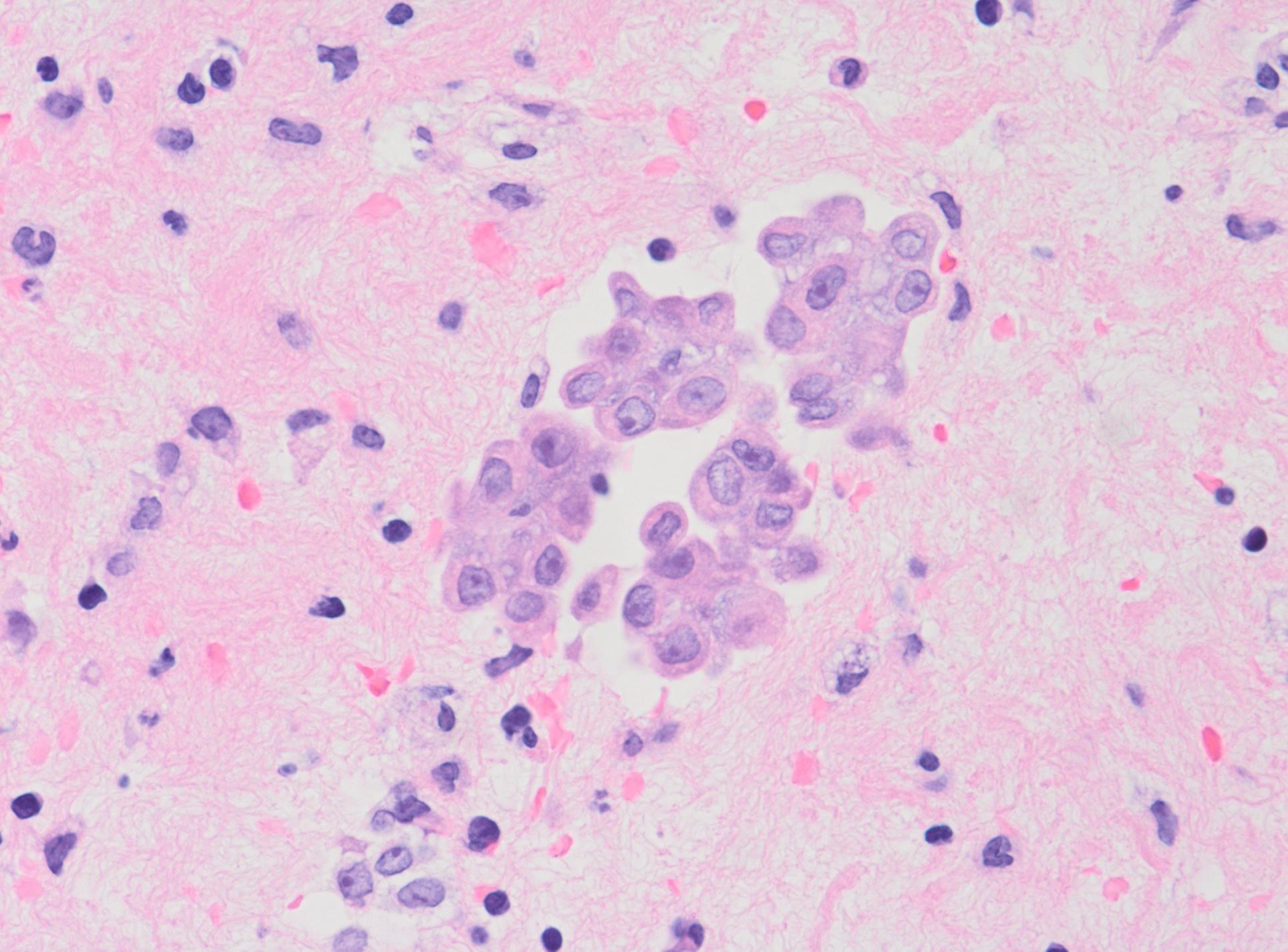
グルコマンナンゲルを型に流し込む



メタノールに浸漬し固化(2~6時間)

HOLD GEL 110キット





アルギン酸ナトリウム法

塗沫後の沈渣をスピッツ内でホルマリン固定



遠心〔3,000rpm・3分〕, 上清を除去



蒸留水を加えて洗浄



遠心〔3,000rpm・3分〕, 上清を除去



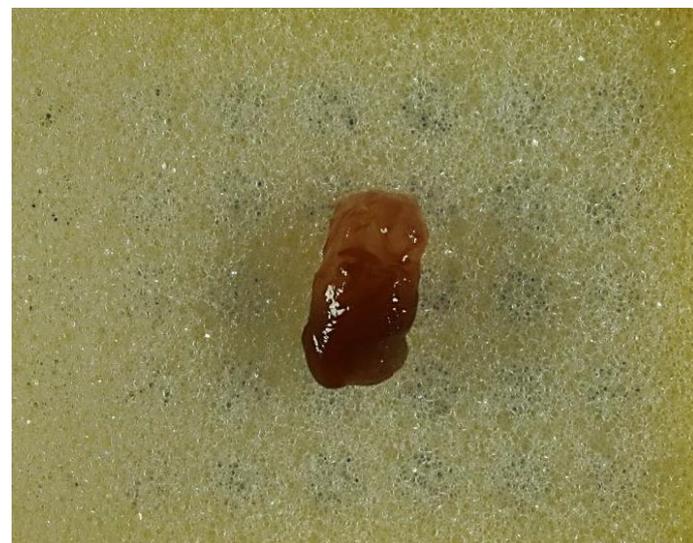
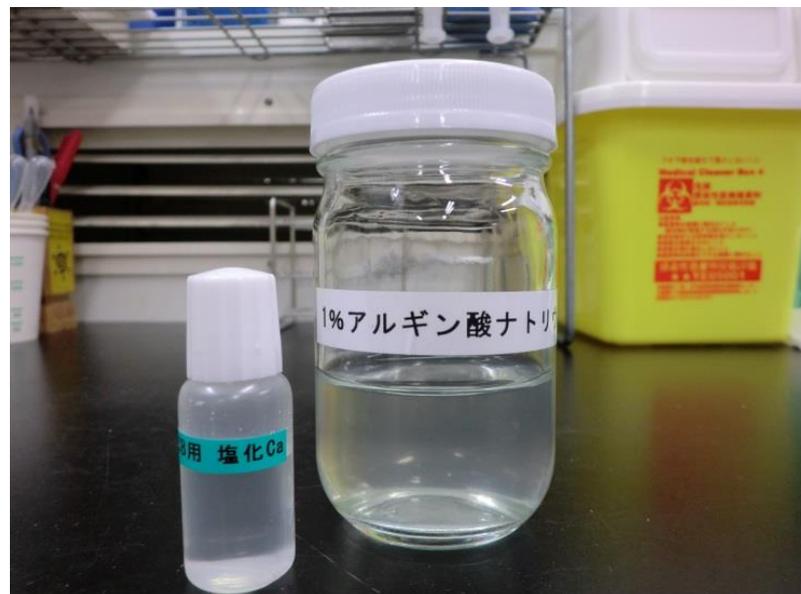
1%アルギン酸ナトリウムを0.5~1ml加えて混和

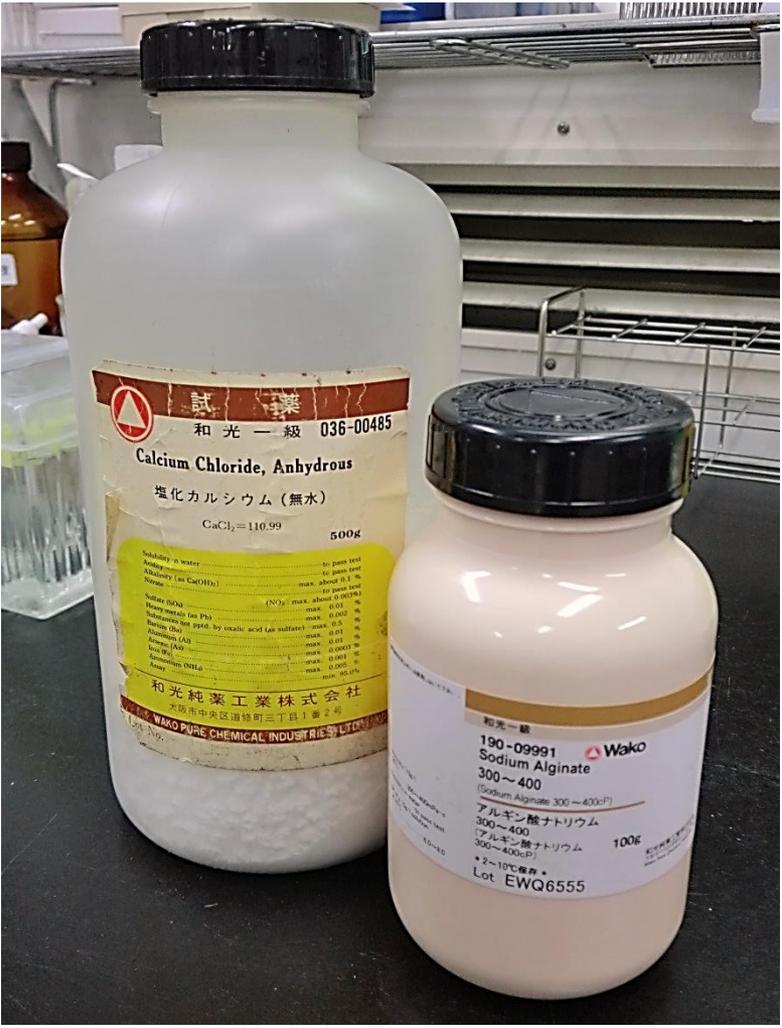


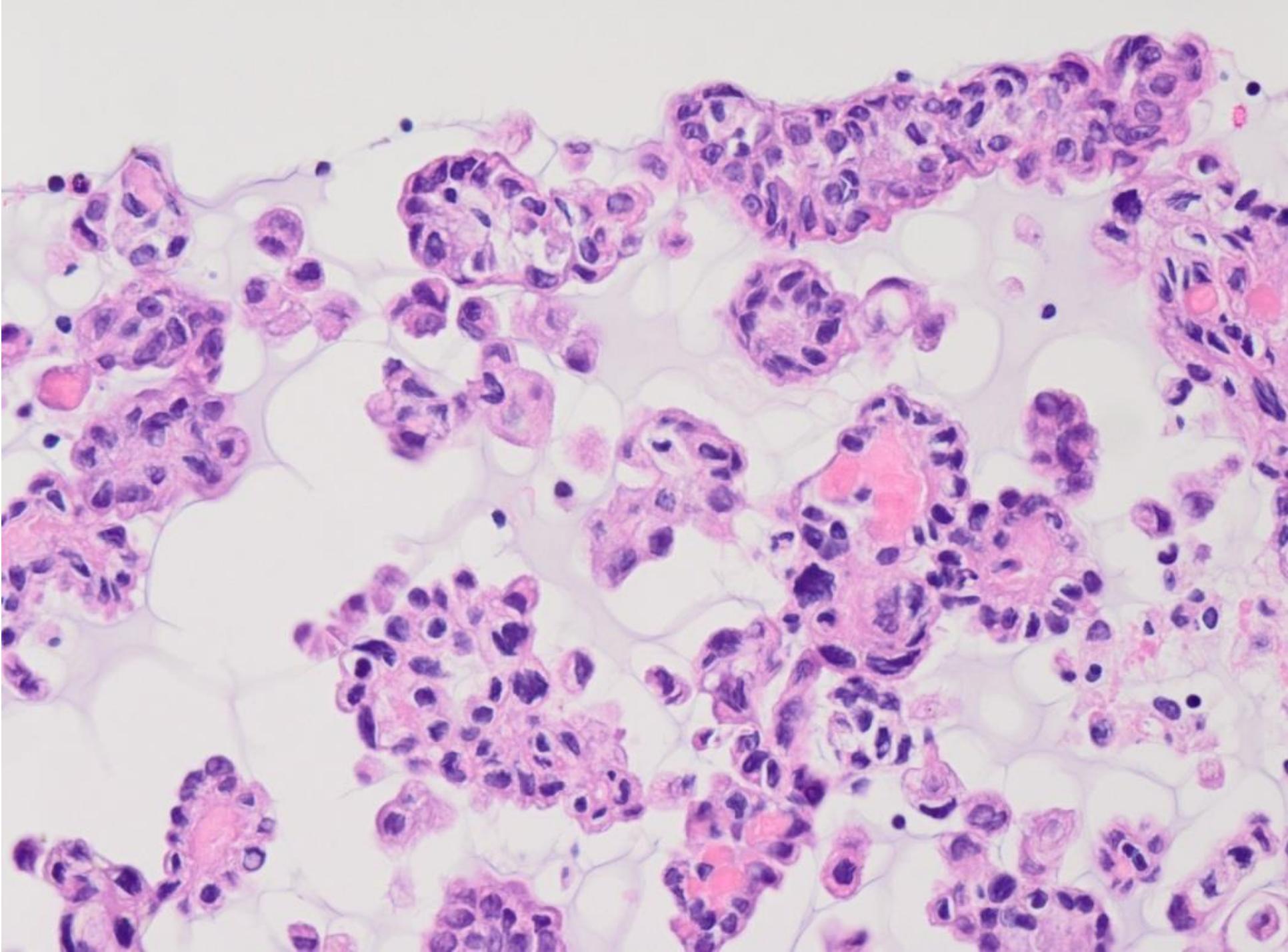
遠心〔3,000rpm・3分〕, 上清を除去



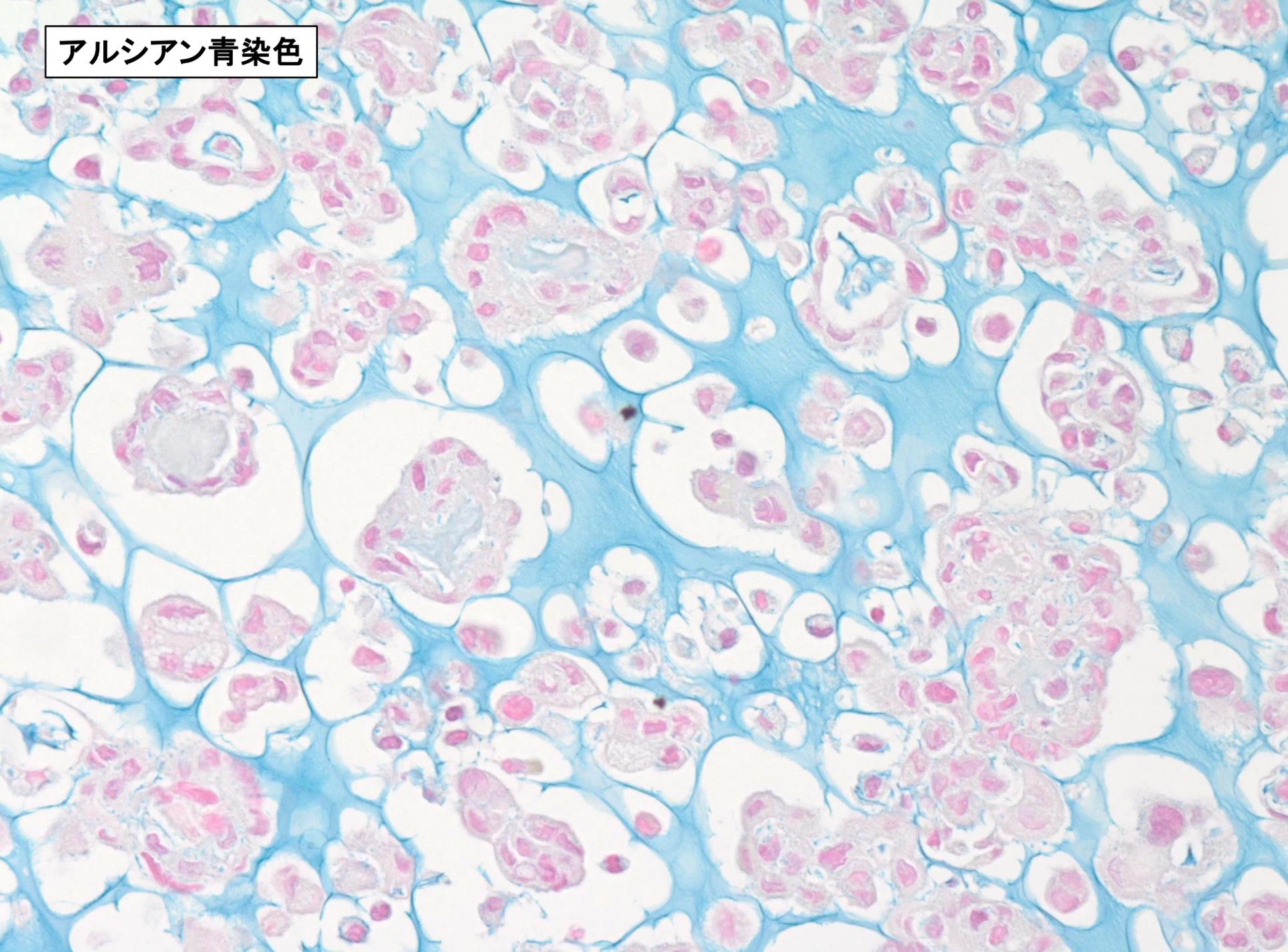
1M塩化カルシウムを2~3滴加えゲル化







アルシアン青染色



コロジオンバッグ法

【前処理－遠沈管の作製】

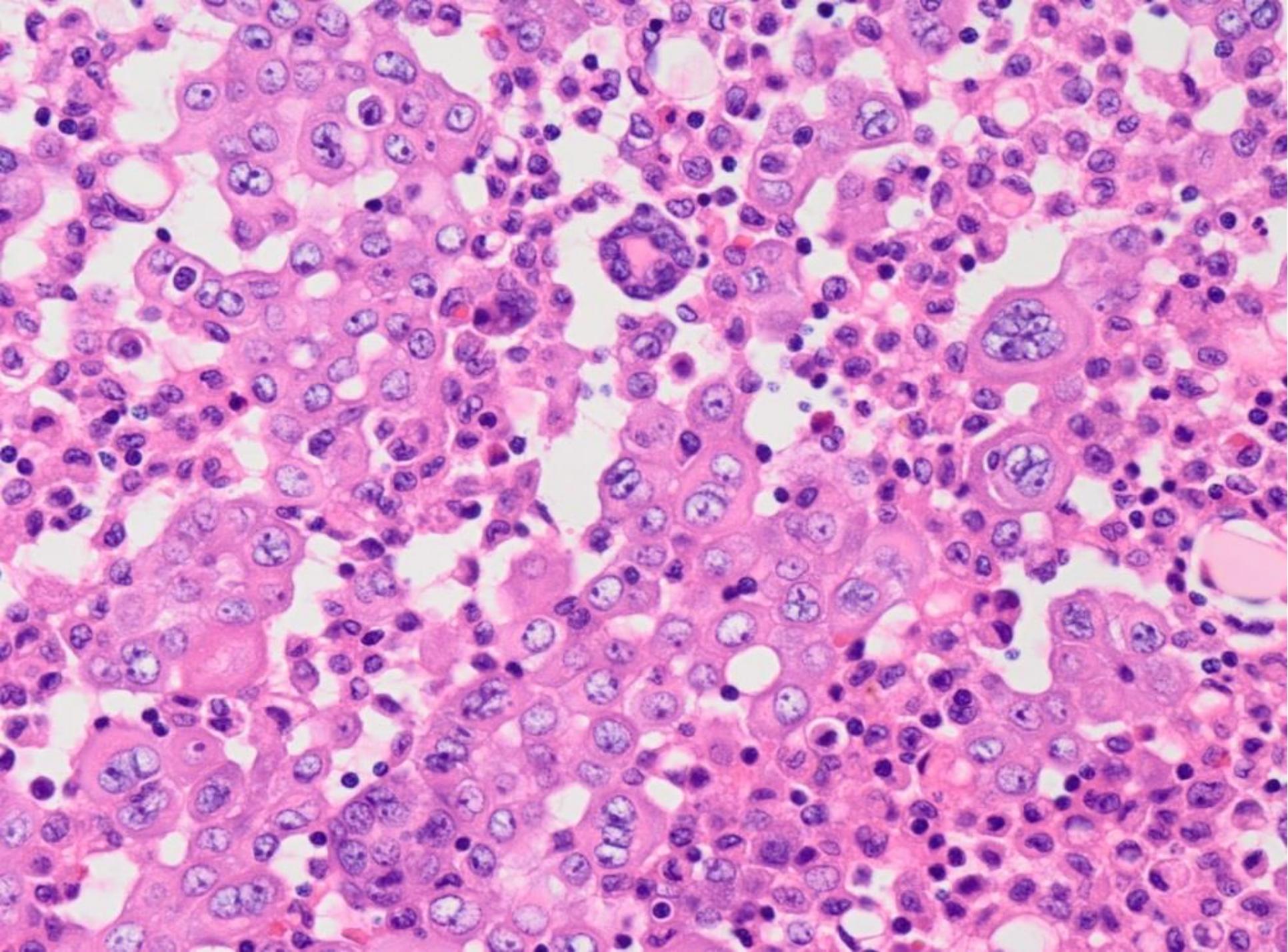
- ① 10%コロジオン エーテル・アルコール溶液をガラス遠沈管に流し込む
- ② 遠沈管を転倒しコロジオン溶液をもとの容器に戻す
- ③ クロロホルムを遠沈管に注ぎ15分以上静置する
- ④ クロロホルムを捨て70%エタノール中に浸漬し保存する

【セルブロックの作製】

- ① 遠沈管内のエタノールを捨てる
- ② ホルマリン固定した検体を遠沈管に入れる
- ③ 遠心〔3,000rpm・3分〕, 上清を除去
- ④ 遠沈管からコロジオンバッグを取り出す



細胞検査士会
体腔液細胞診標本作製マニュアルより



クライオバイアル法

塗沫後の沈渣0.2ml程度をクライオバイアルに分注



遠心[3,000rpm・3分], 上清を除去



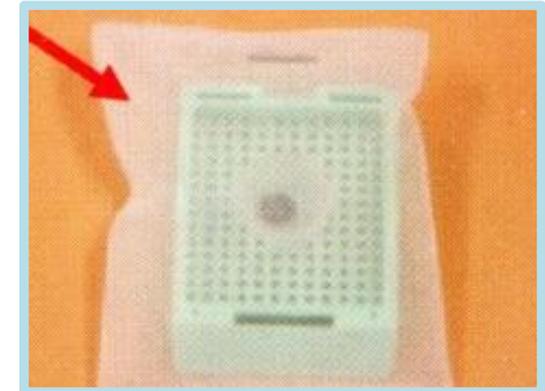
ホルマリンを静かに重層する



固定後ホルマリンを除去し, カッターでクライオバイアル
(0.5ml目盛部分)を切断する



切断したクライオバイアルごとサンプルメッシュパック
に入れホッチキスで封をする



細胞検査士会
体腔液細胞診標本作製マニュアルより

遠心分離集細胞法としてポリエチレン製の試験管やマイクロチューブ,
エペンドルフチップ等を用いた方法もある

各種セルブロック作製法の比較

〈使用する試薬類〉

- 血液凝固因子法は高額で特殊な医薬品が必要
- コロジオンバッグ法はクロロホルム(有機溶剤中毒予防規則・第1種有機溶剤)やエーテル(有機溶剤中毒予防規則・第2種有機溶剤)を使用

〈使用する器具類〉

- グルコマンナン法はキットが必要
(キットを使用せずにスピッツ内でグルコマンナンと検体, メタノールを重層させることも可能)
- クライオバイアル法は容器の切断が困難

各種セルブロック作製法の比較

〈 前処理・溶剤の作製 〉

- アルギン酸ナトリウム法は試薬の溶解に時間を要する
- コロジオンバッグ法は遠沈管の準備に時間を要する

〈 検体処理の所要時間 〉

- グルコマンナン法は固化に時間を要する
- アルギン酸ナトリウム法は遠心分離の回数が多い

〈 細胞形態 〉

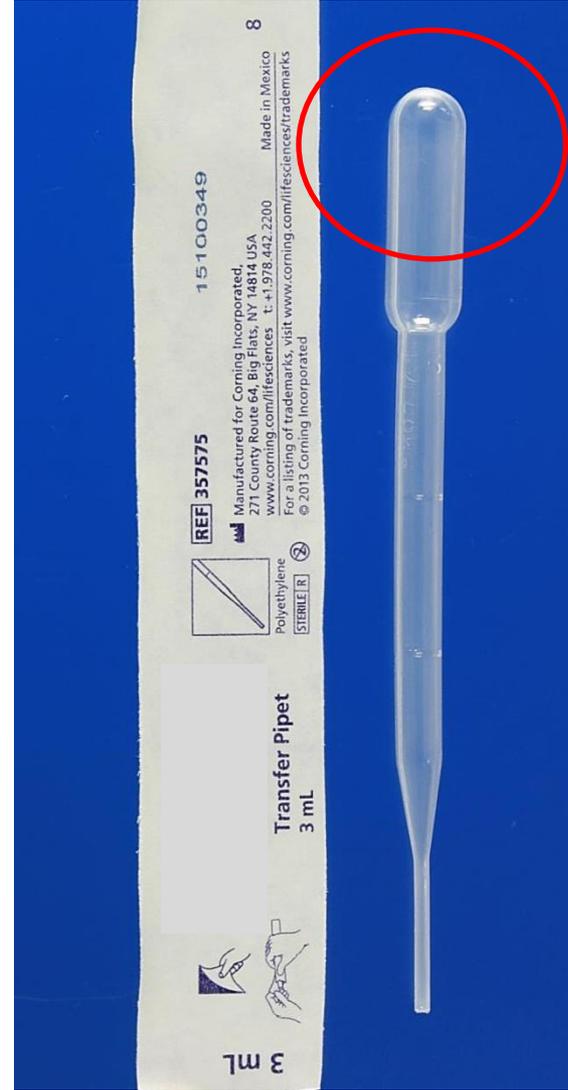
- アルギン酸ナトリウム法は細胞が収縮する

セルブロック作製法の試み

【ポリエチレン製容器を用いた遠心分離集細胞法】



サンプリングチューブ



【ポリエチレン製容器を用いた遠心分離集細胞法】



沈渣を容器に分注



容器にホルマリンを注入後混和



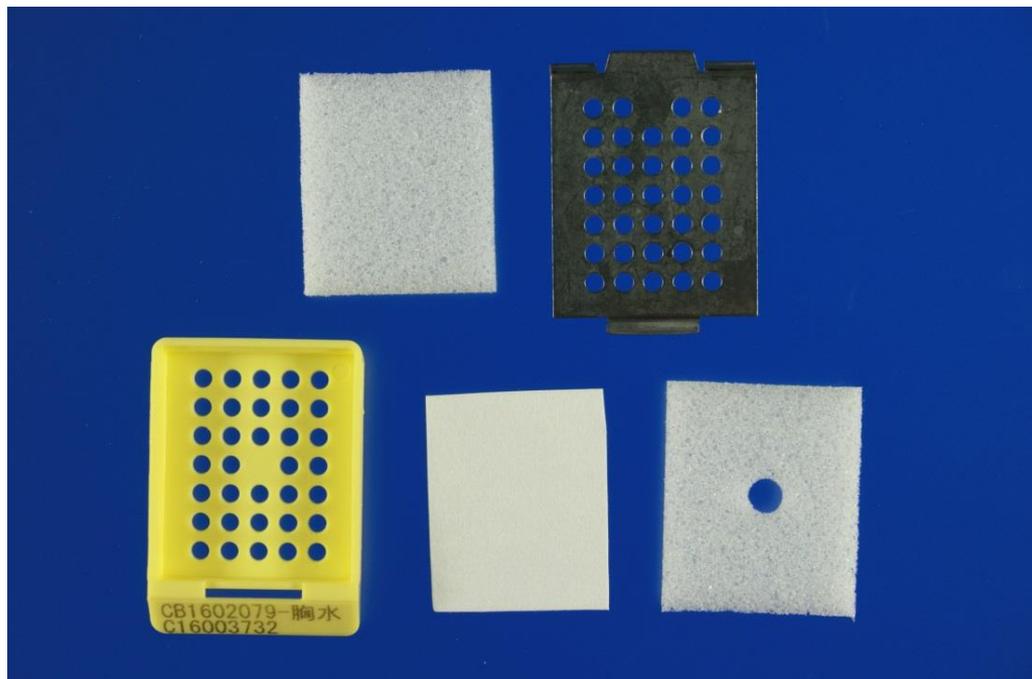
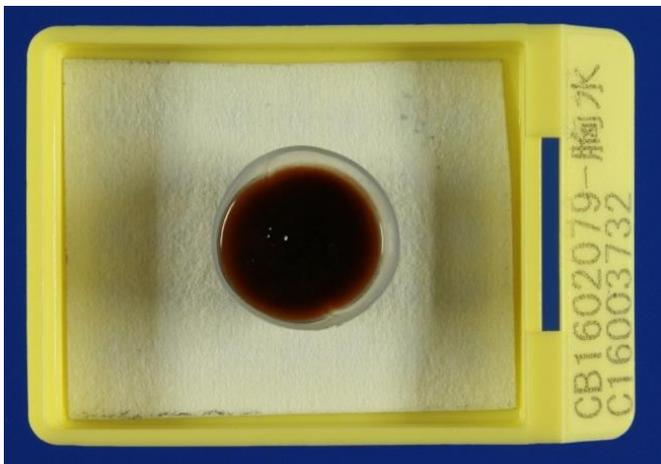
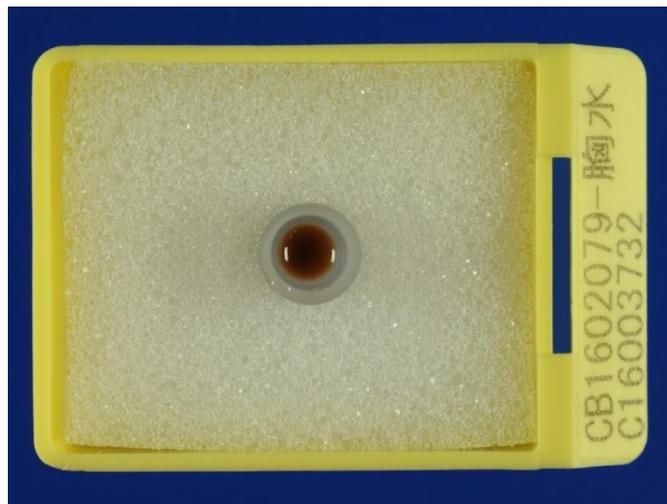
遠心〔3,000rpm・3分〕



固定 (Overnight)

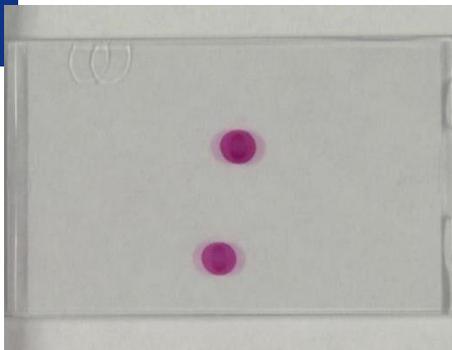
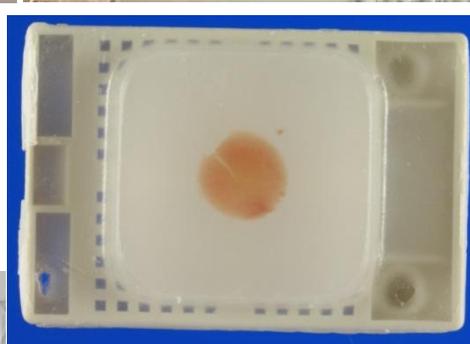
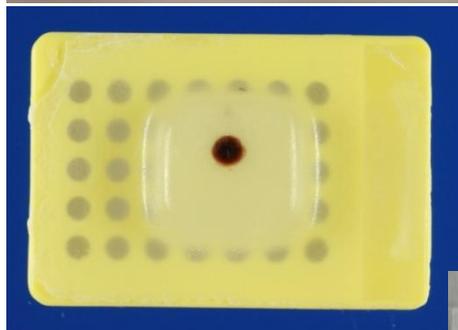
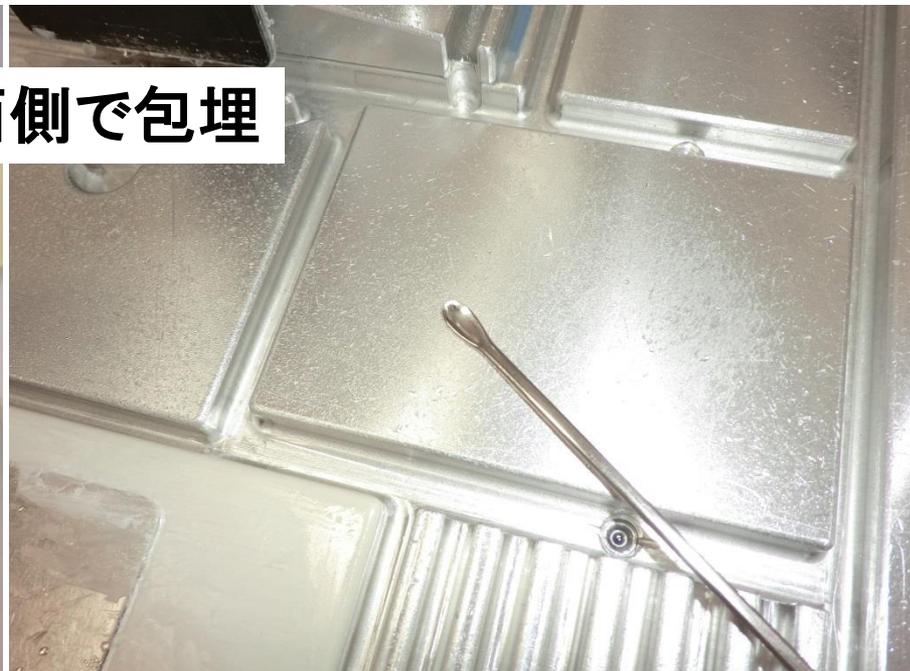
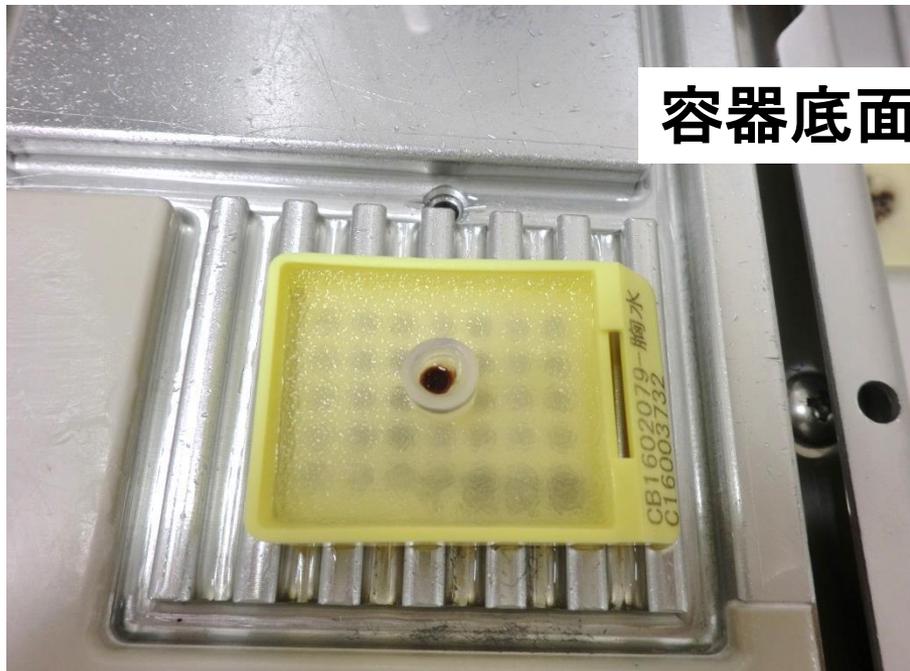
沈渣量が多くなり過ぎないように調節

【ポリエチレン製容器を用いた遠心分離集細胞法】

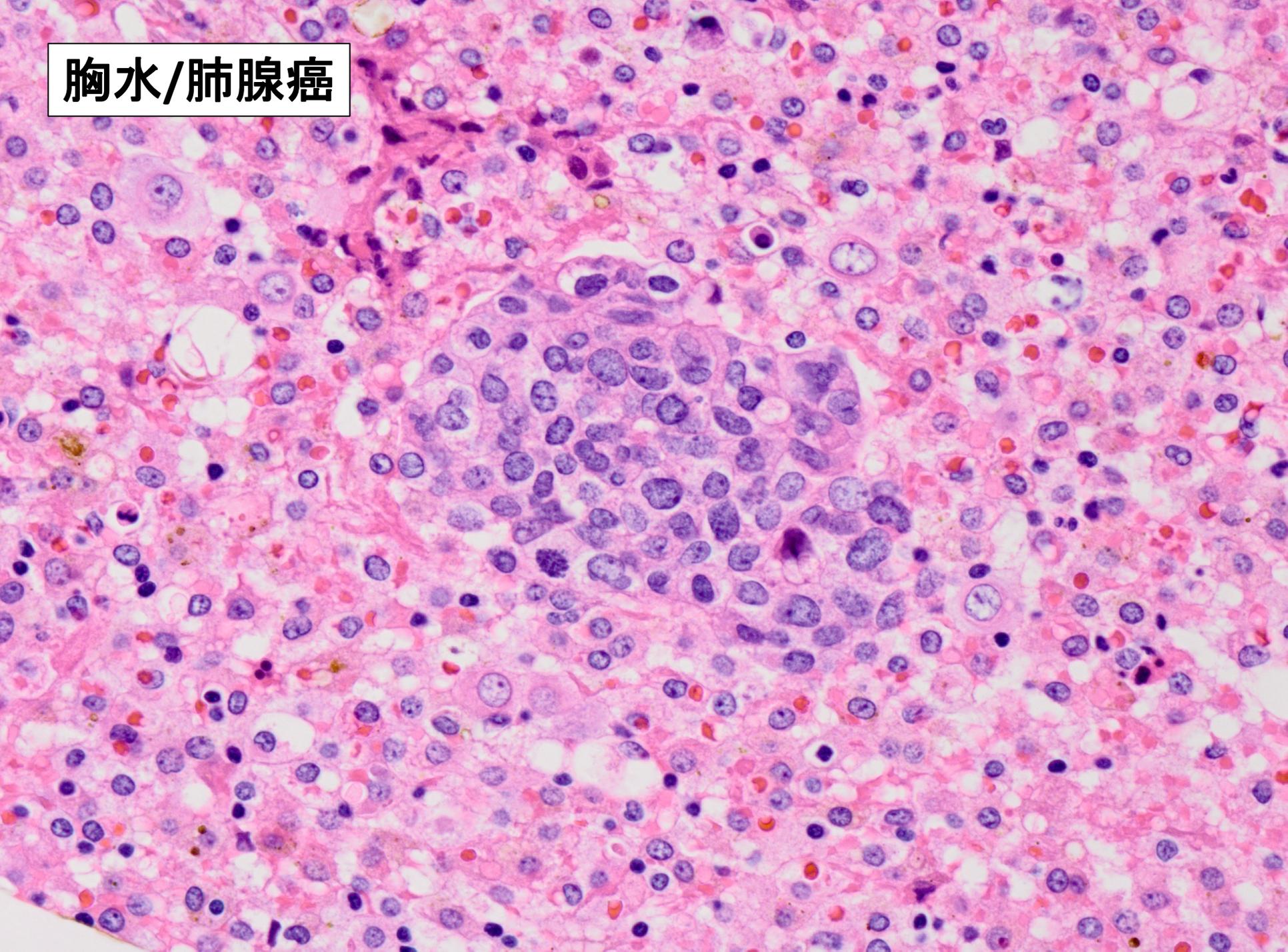


【ポリエチレン製容器を用いた遠心分離集細胞法】

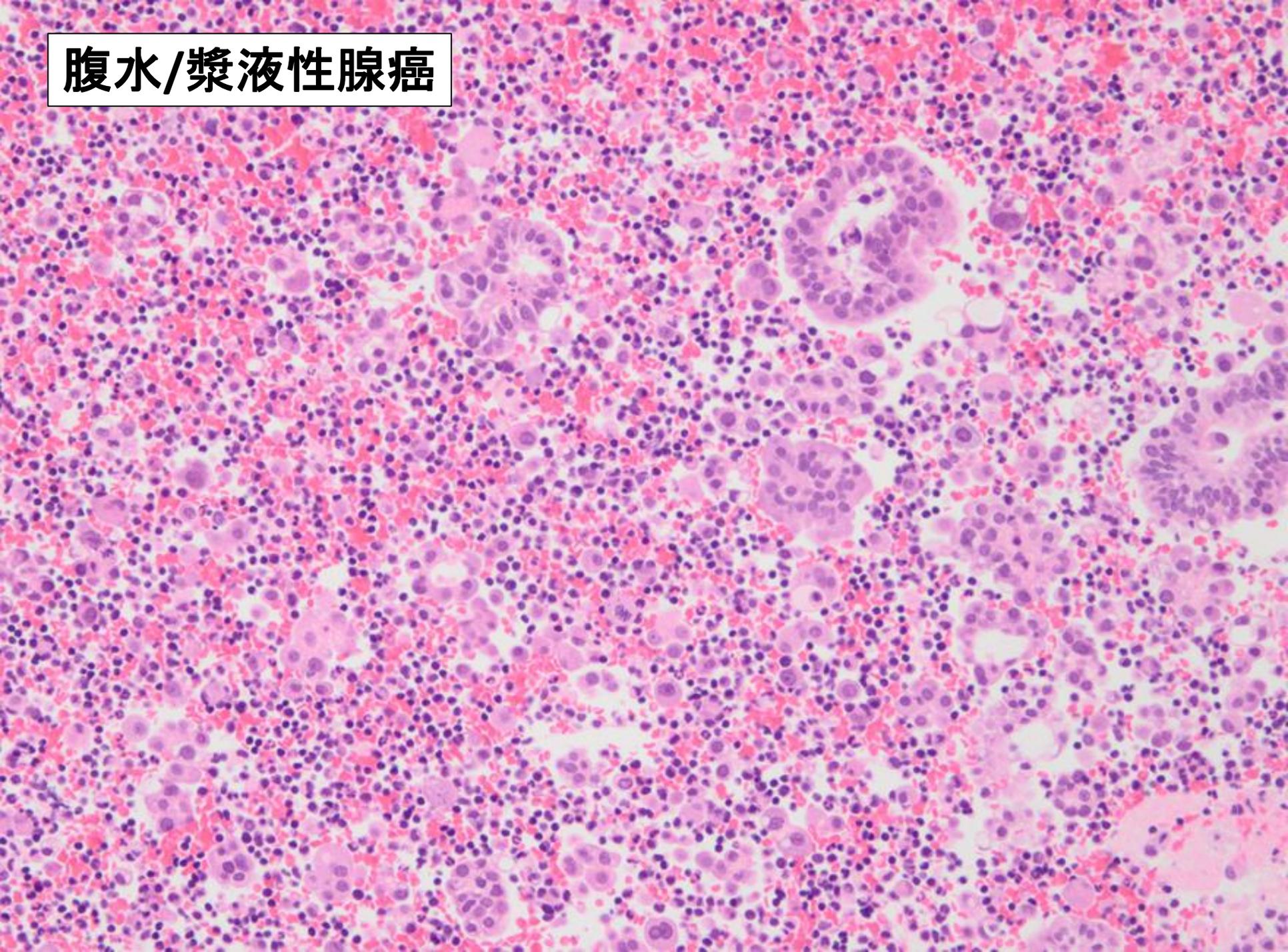
容器底面側で包埋



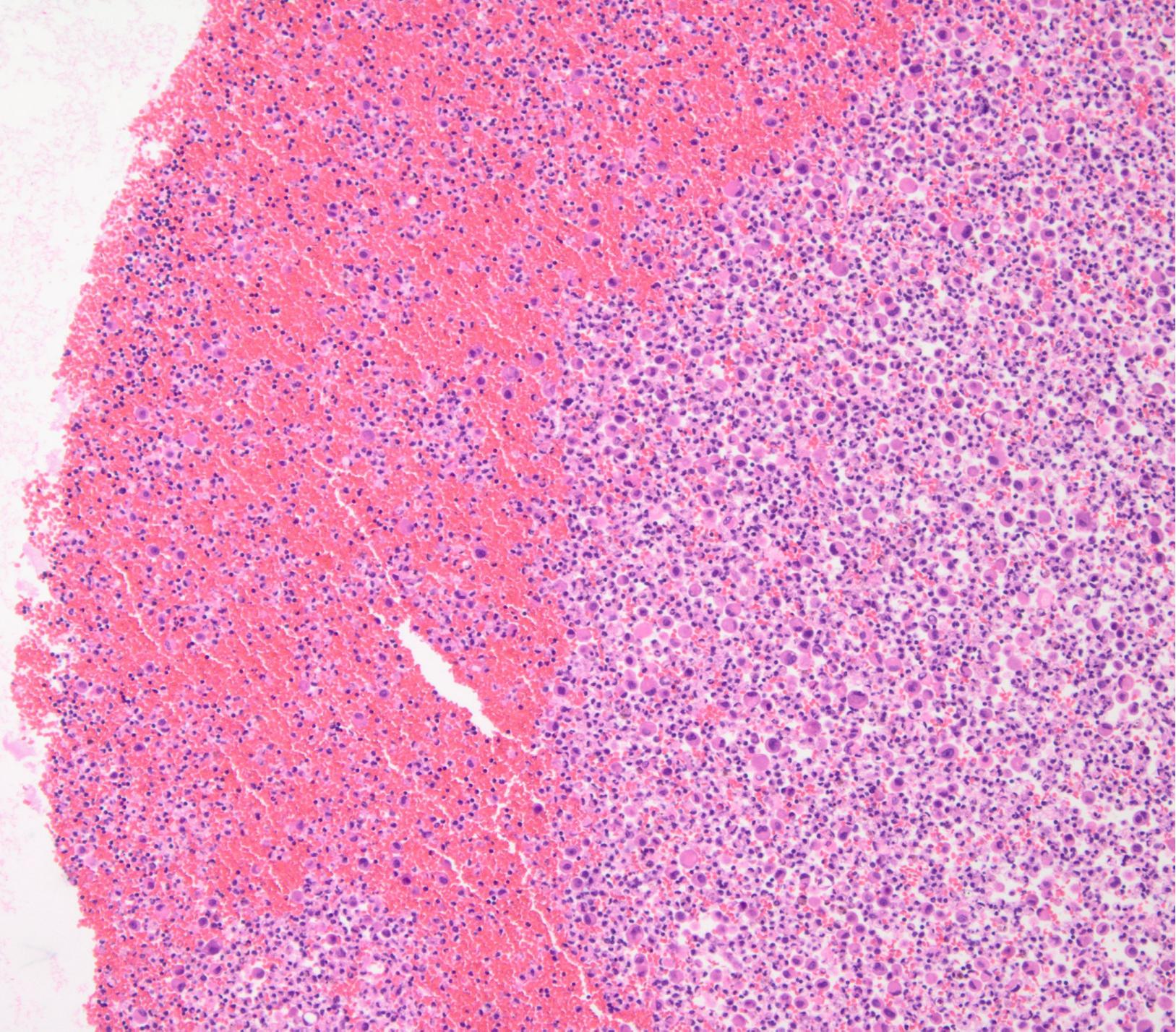
胸水/肺腺癌



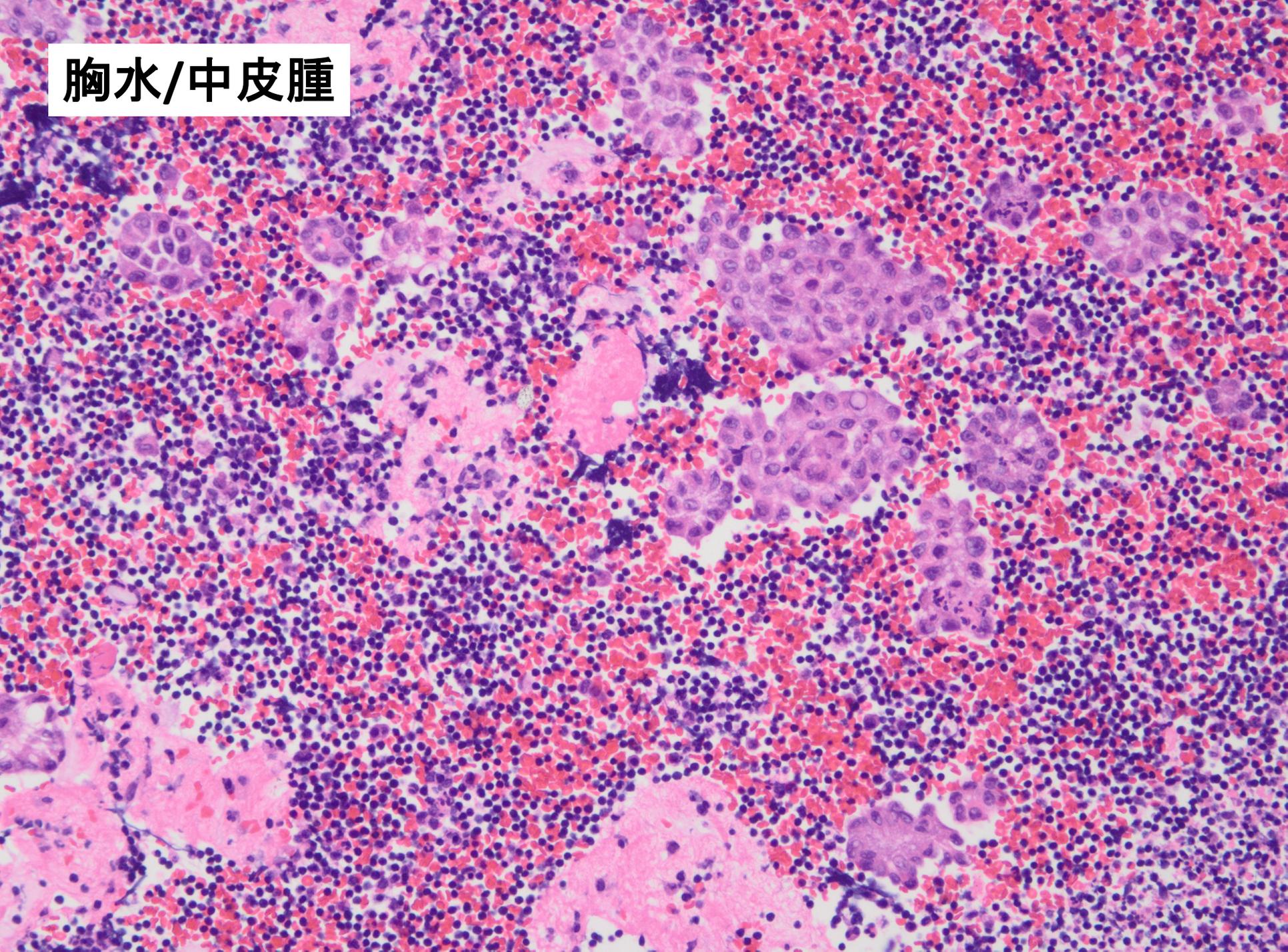
腹水/漿液性腺癌

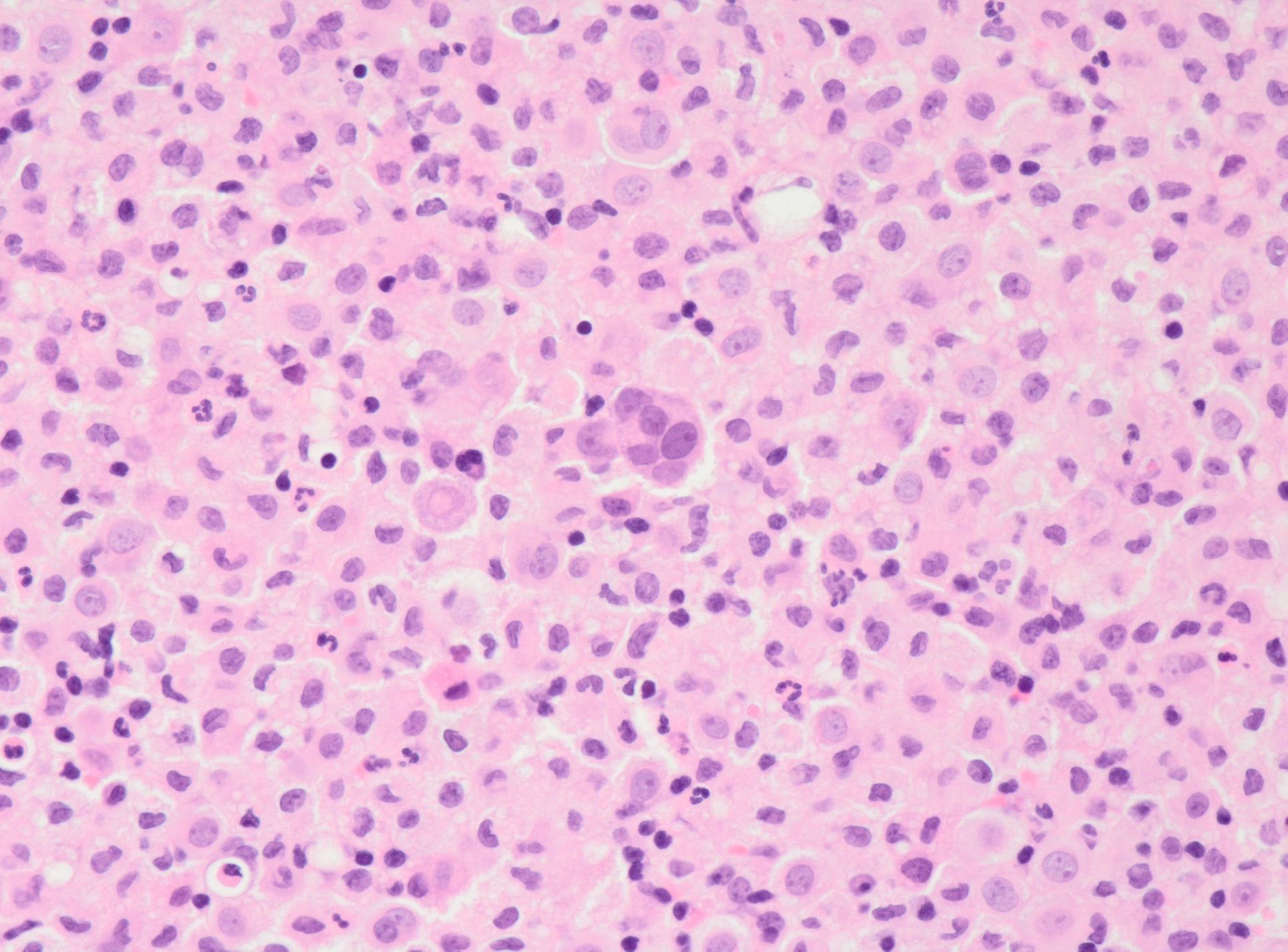


容器外側



胸水/中皮腫



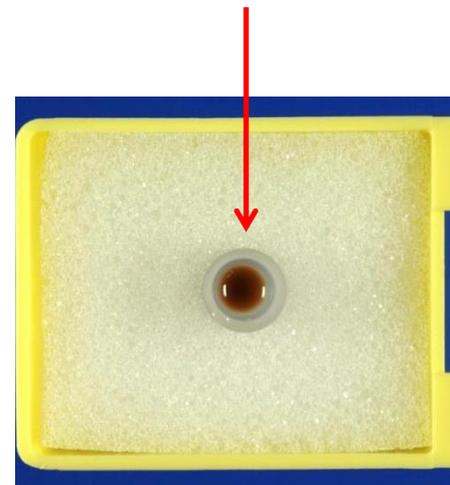
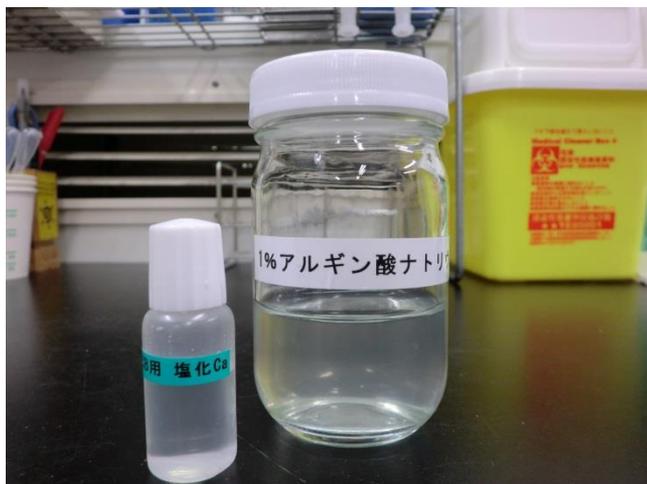
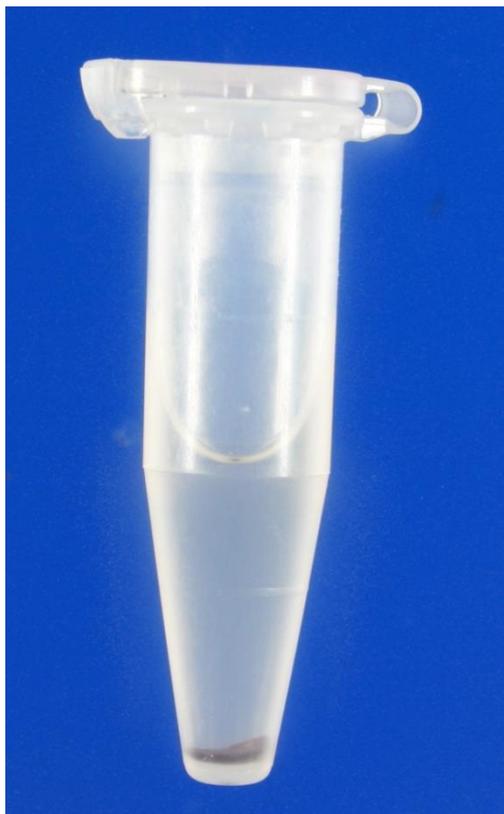


【ポリエチレン製容器を用いた遠心分離集細胞法】

微量検体への応用の可能性

沈渣表面にアルギン酸ナトリウムを1滴
滴下後、塩化カルシウムを1-2滴垂らす

パラフィン包埋時に回収
できない少量の沈渣



③ 当院のセルブロック法の運用

当院におけるセルブロック(CB)法の運用

【対象検体】

主に体腔液

【目的】

組織型鑑別，原発巣推定，腫瘍細胞の有無確認の為
の免疫染色を行う

【CB作製方法】

アルギン酸ナトリウム法

PE製容器を用いた遠心分離集細胞法(試行中)

【手順A—鏡検後，検査士の指示でCBを作製】

- ①細胞診標本塗沫処理後の残検体がある場合はホルマリン固定をして保存
- ②『ホルマリンあり』の付箋をドレーゼに貼り，翌日の染色担当者，鏡検担当者へ引き継ぐ
- ③スクリーニング後，必要があると考えられた場合はCBの作製を鏡検担当者が指示する
- ④CB標本所見確認の後，専門医の指示の下，免疫染色を行う

【手順B—細胞診標本塗沫処理と同時に検体処理者の判断でCBを作製】

- ①細胞診標本塗沫処理後の残検体をホルマリン固定し，当日～翌日にCBを作製を開始する
- ②『CBあり』の付箋をドレーゼに貼り，染色担当者，鏡検担当者へ引き継ぐ
- ③CB標本所見確認の後，必要がある場合は専門医の指示の下，免疫染色を行う

病理システム受付画面

ラベルセット Enter

	病理検査番号	氏名	検体	染色	印刷	対象	枚数
1	C16004417		胸水		2	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
2	C16004417		胸水		2	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
3	C16004417		胸水	AB	2	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
4	C16004417		胸水	PAS	2	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
5	C16004417		胸水	G	2	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

計

CB番号	検体名	検査番号	マガジンID
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

病理システム診断画面

検体処理情報

検体性状 **淡黄色** 沈渣 処理者

処理コメント

CB160088

スライド枚数 枚

④ 症例

【症例1】胸水細胞診

60代 男性

2年前に食道癌手術，化学療法中

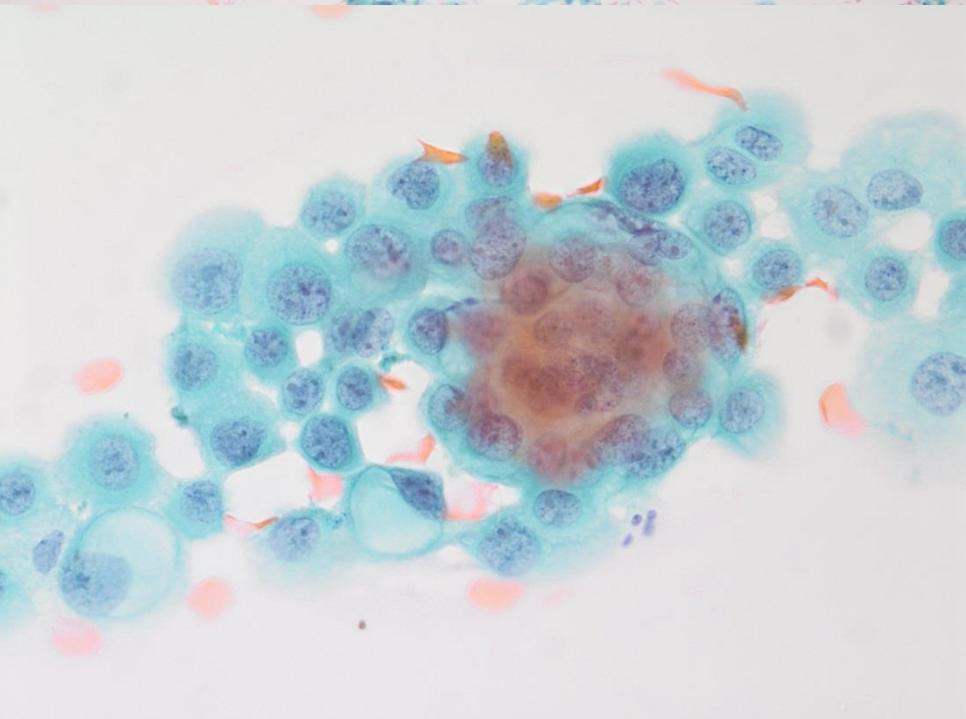
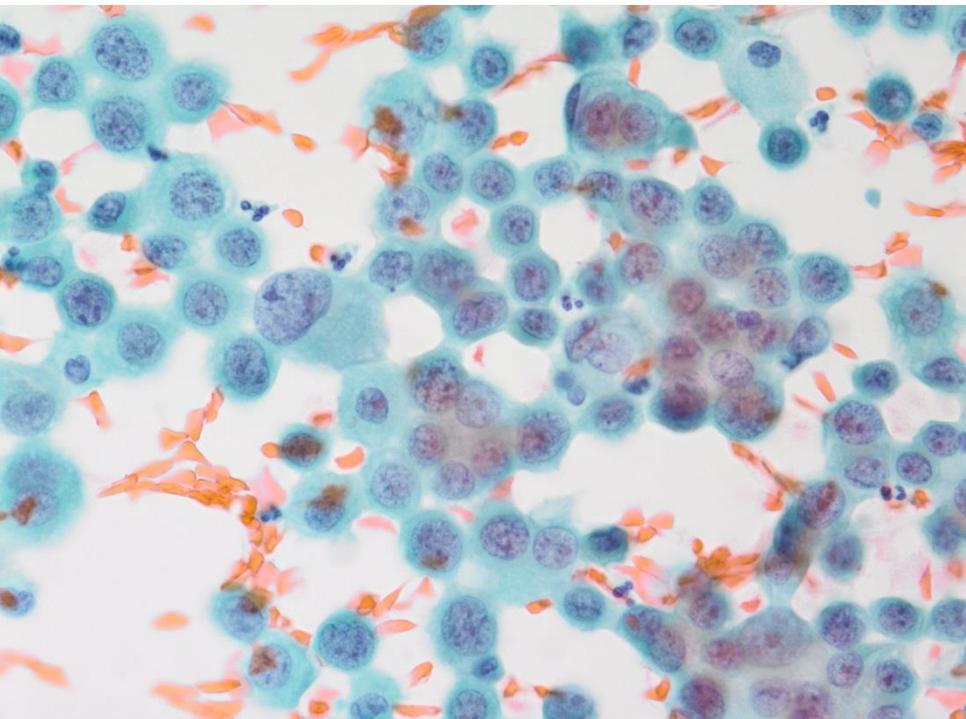
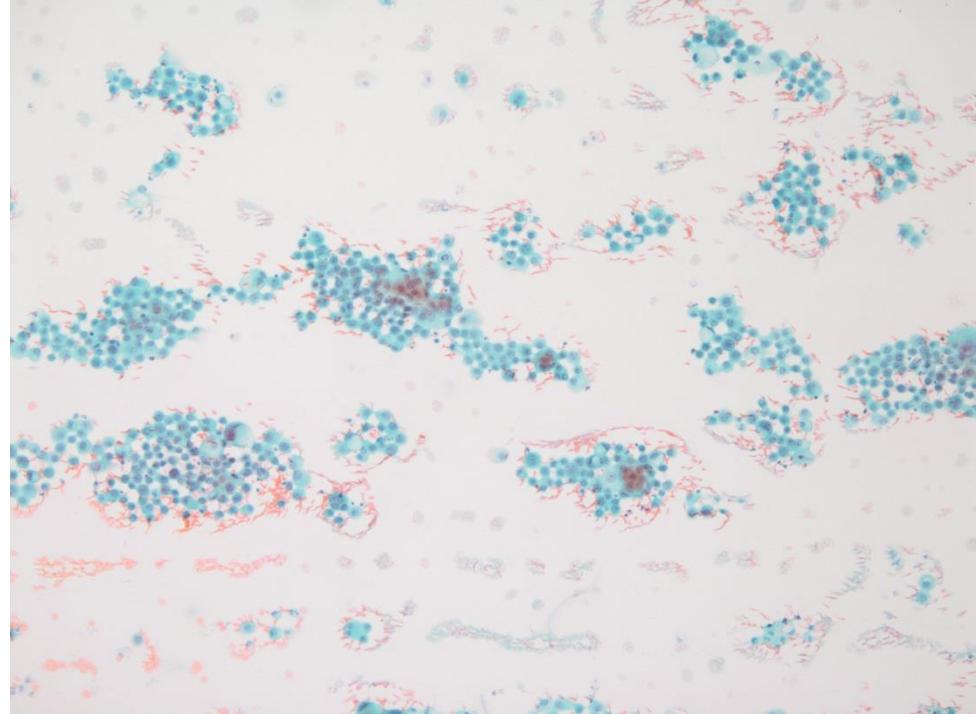
2か月前より呼吸苦，咳嗽あり

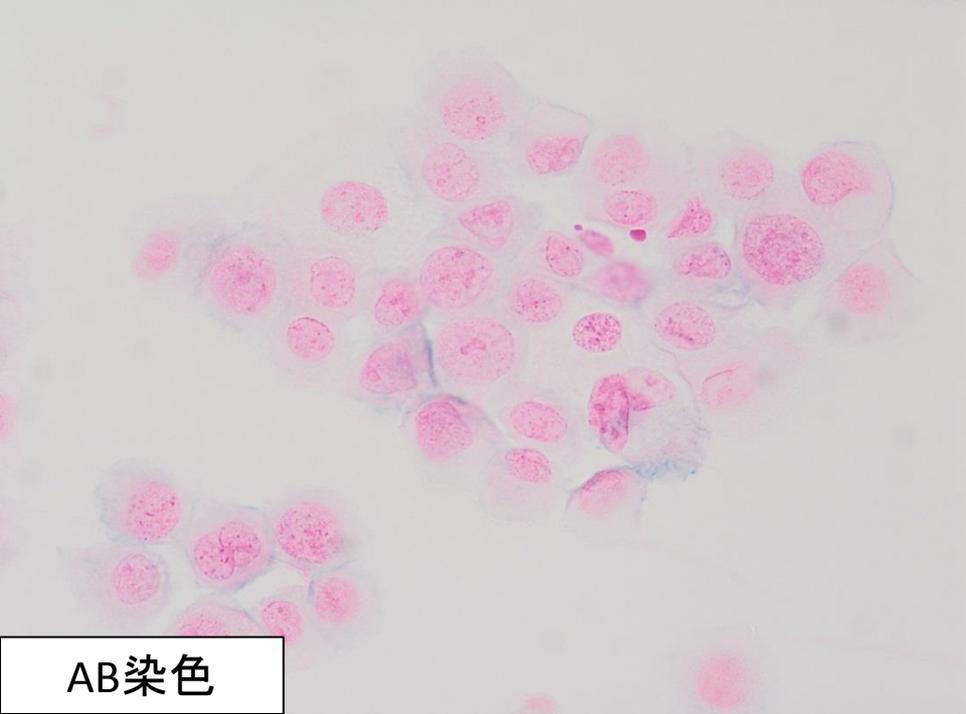
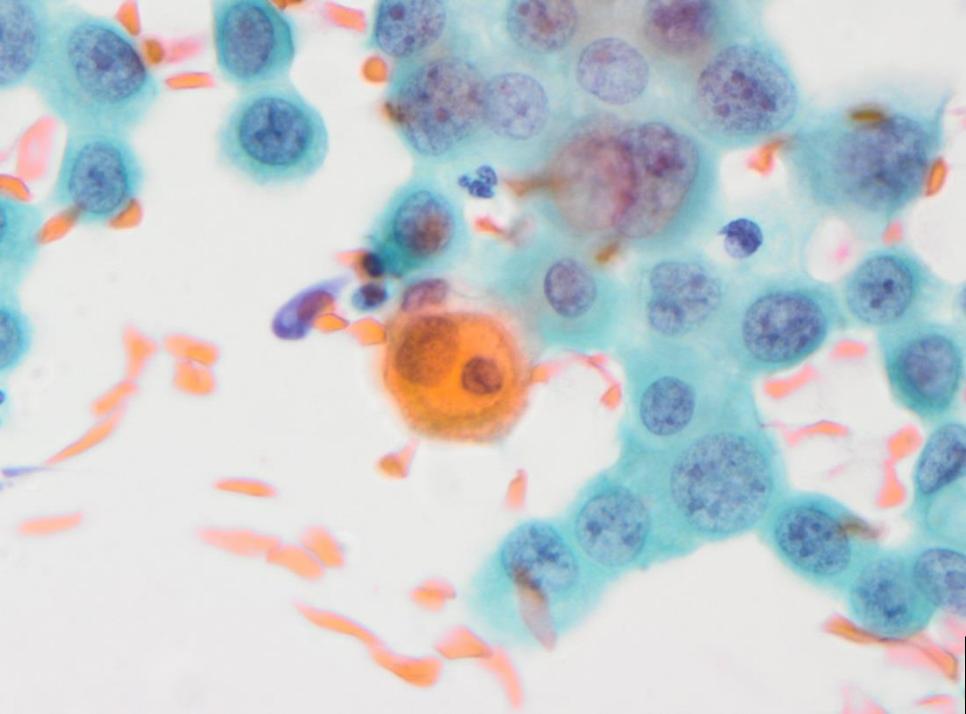
左胸水貯留

ヒアルロン酸(穿刺液) : 66400 ng/ml

CEA : 19.3 ng/ml

SCC抗原 : 基準値内

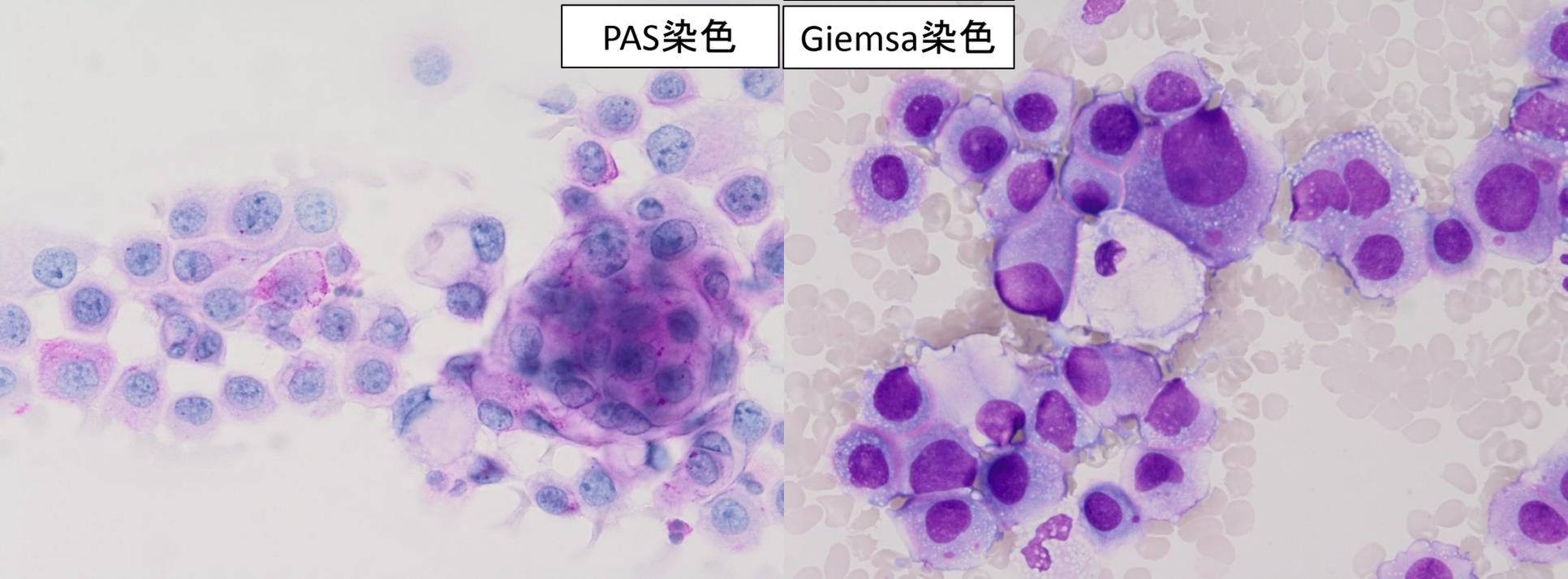


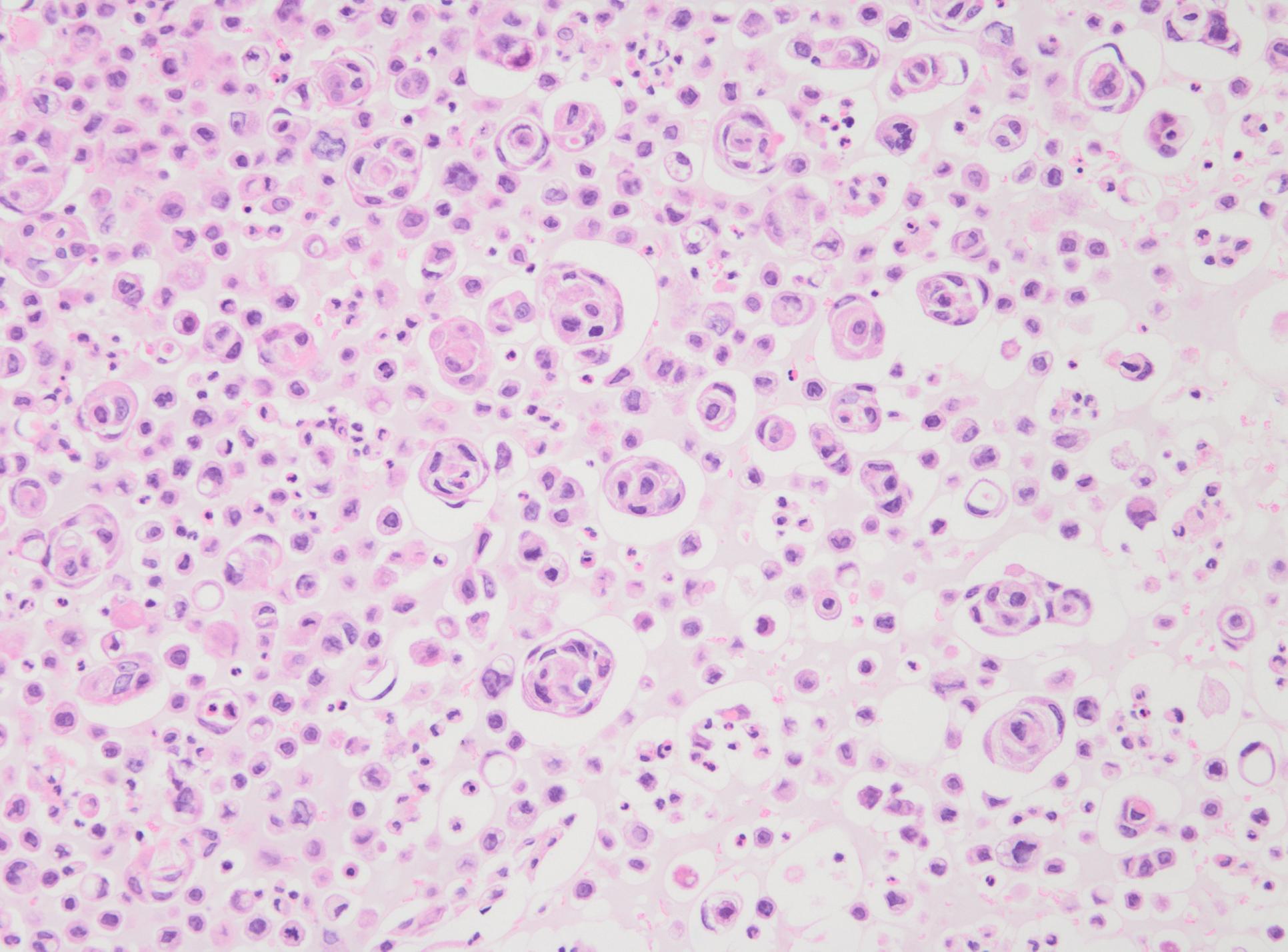


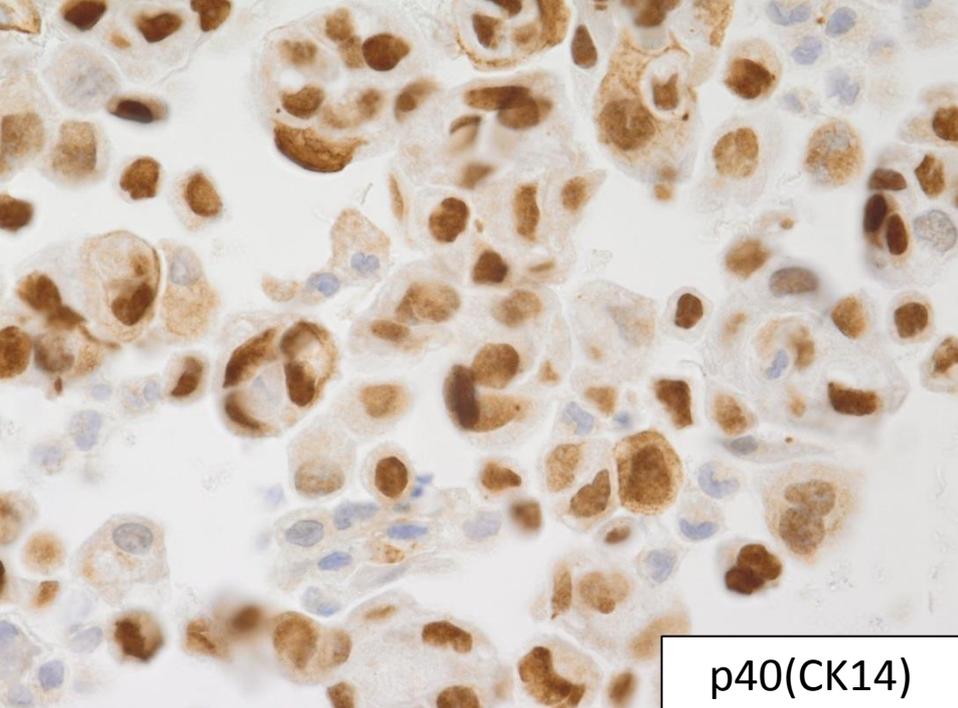
AB染色

PAS染色

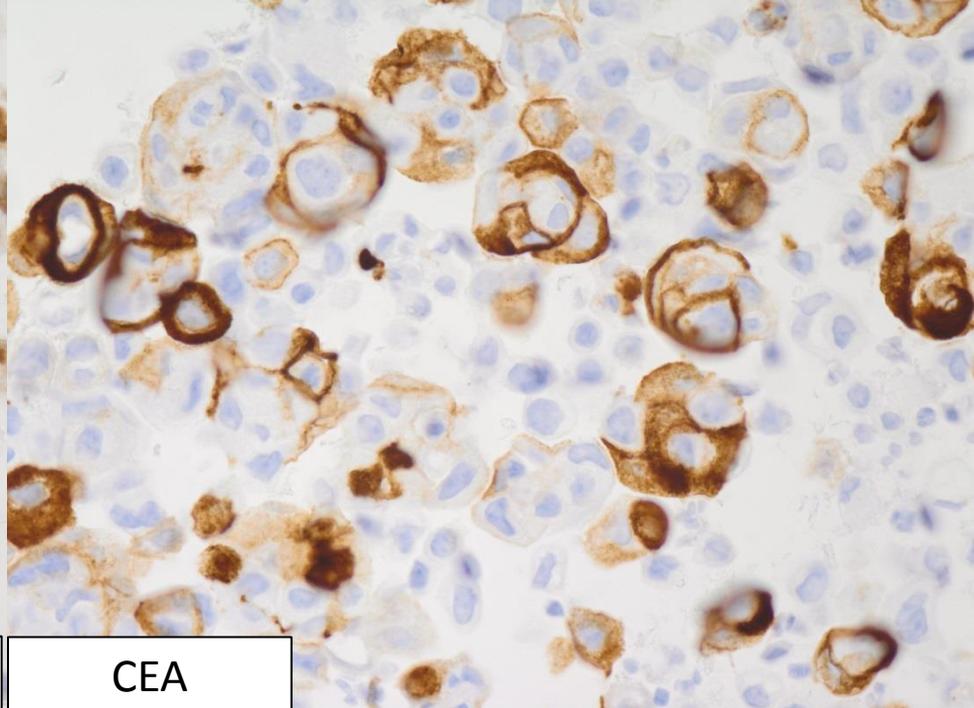
Giemsa染色



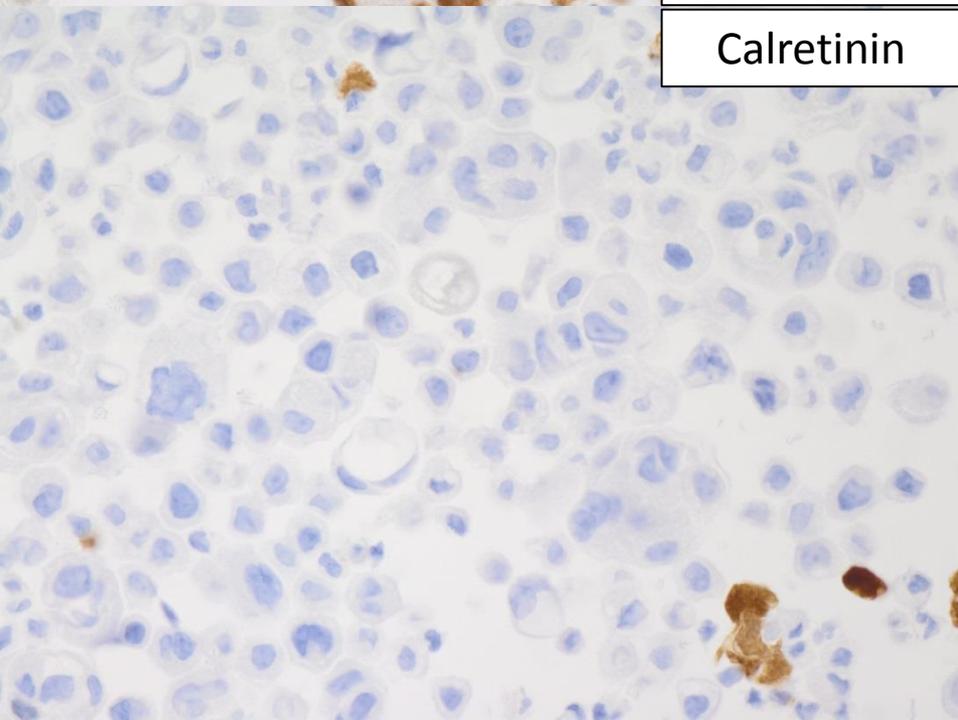




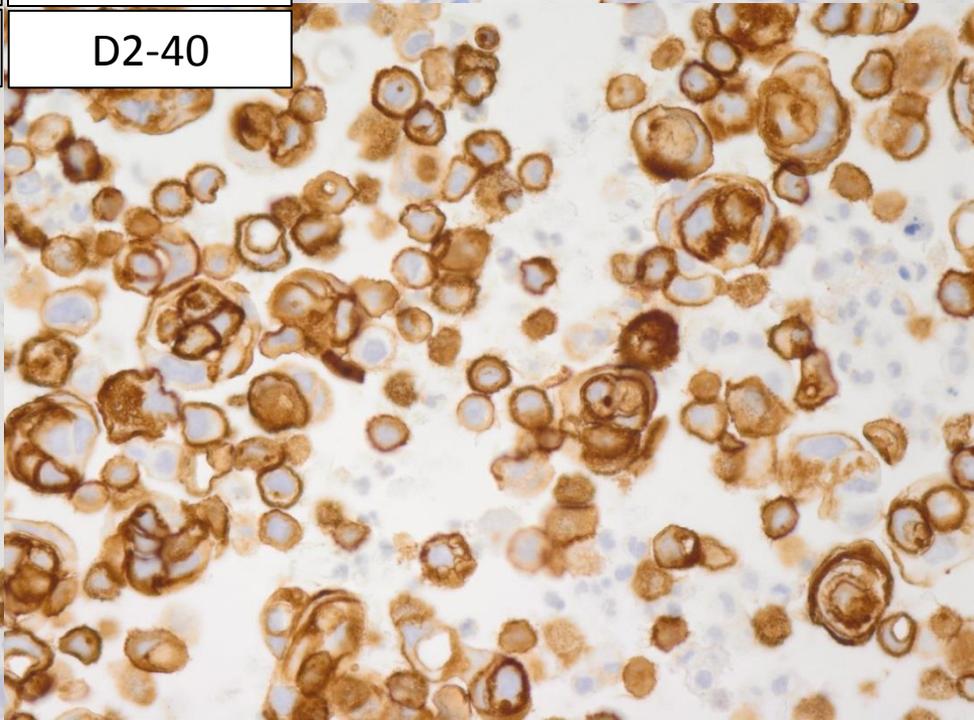
p40(CK14)



CEA



Calretinin



D2-40

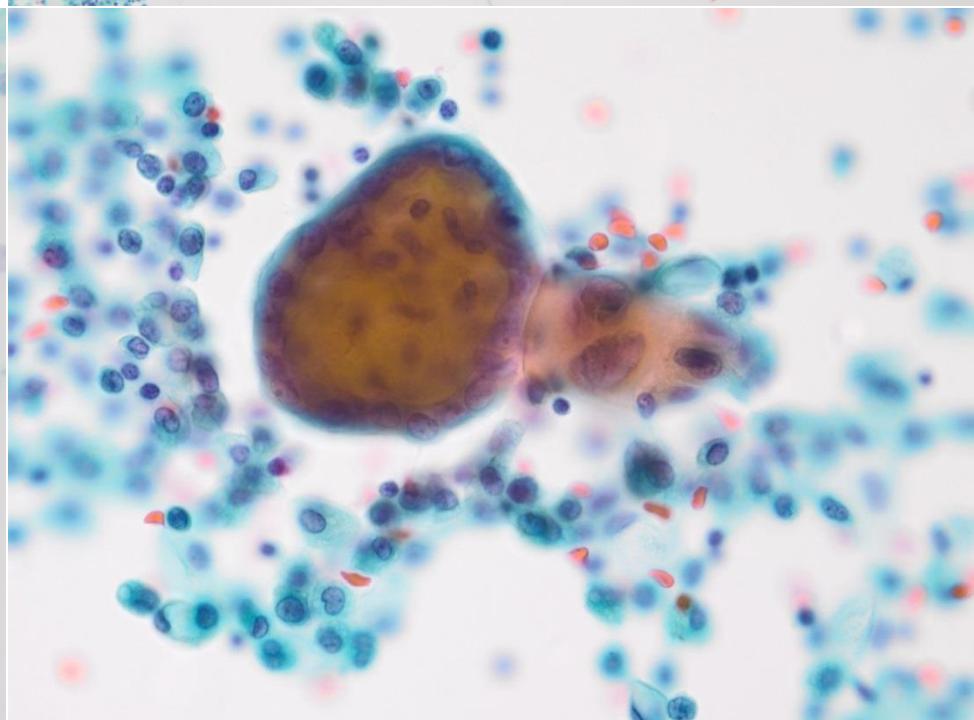
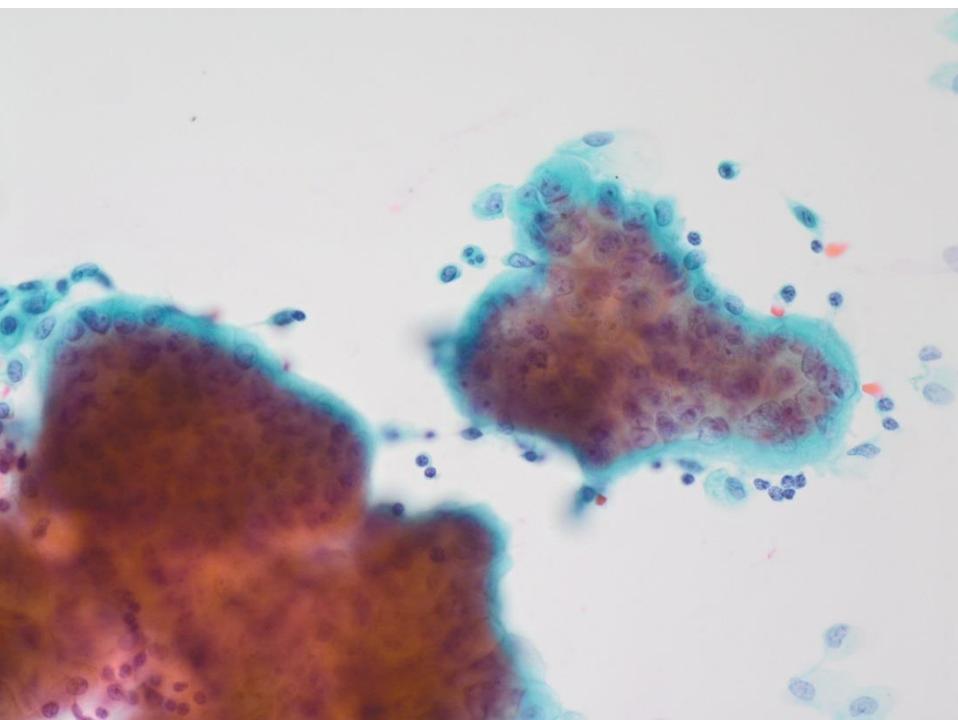
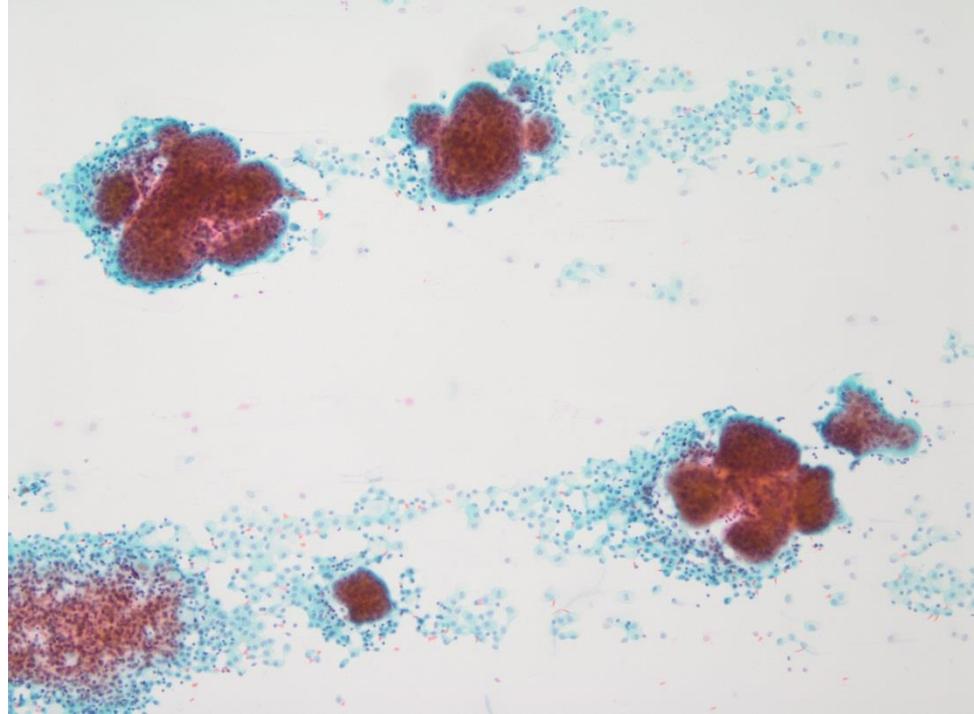
【症例2】 胸水細胞診

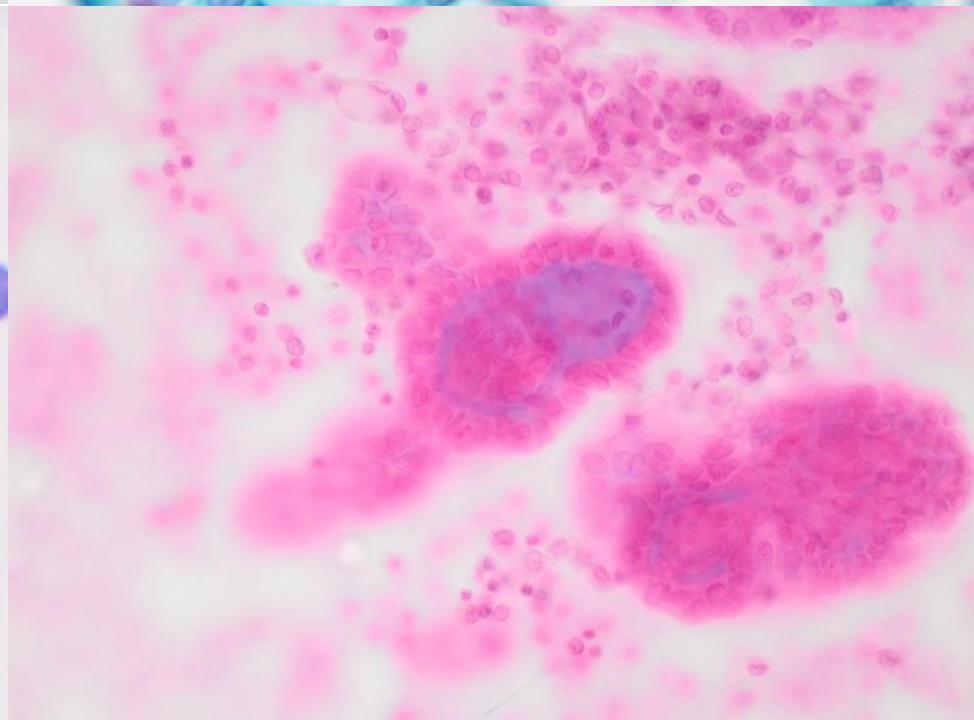
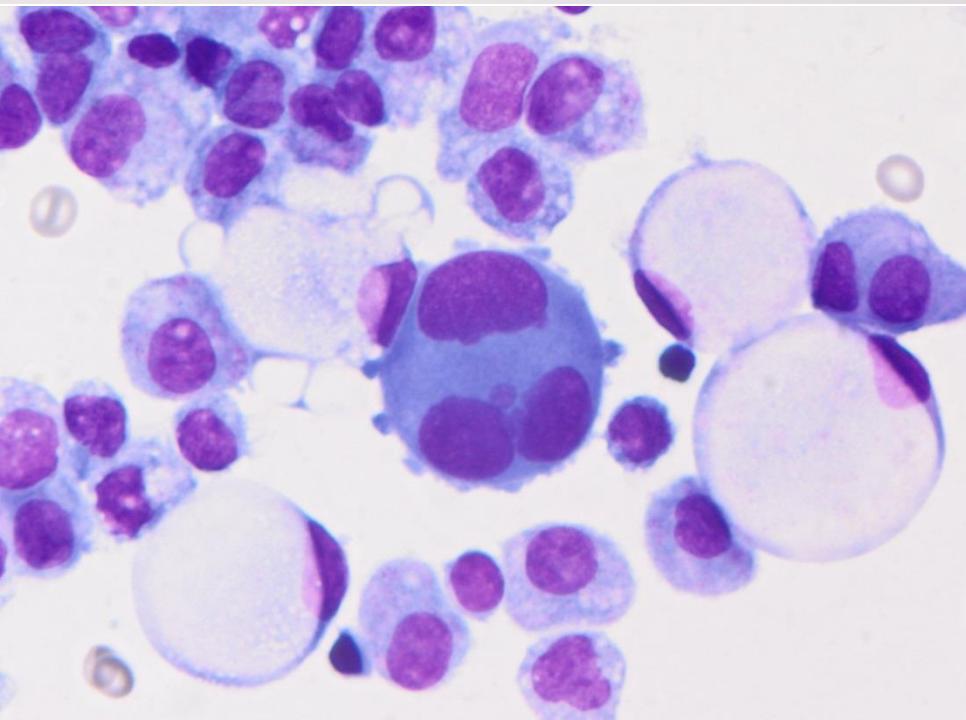
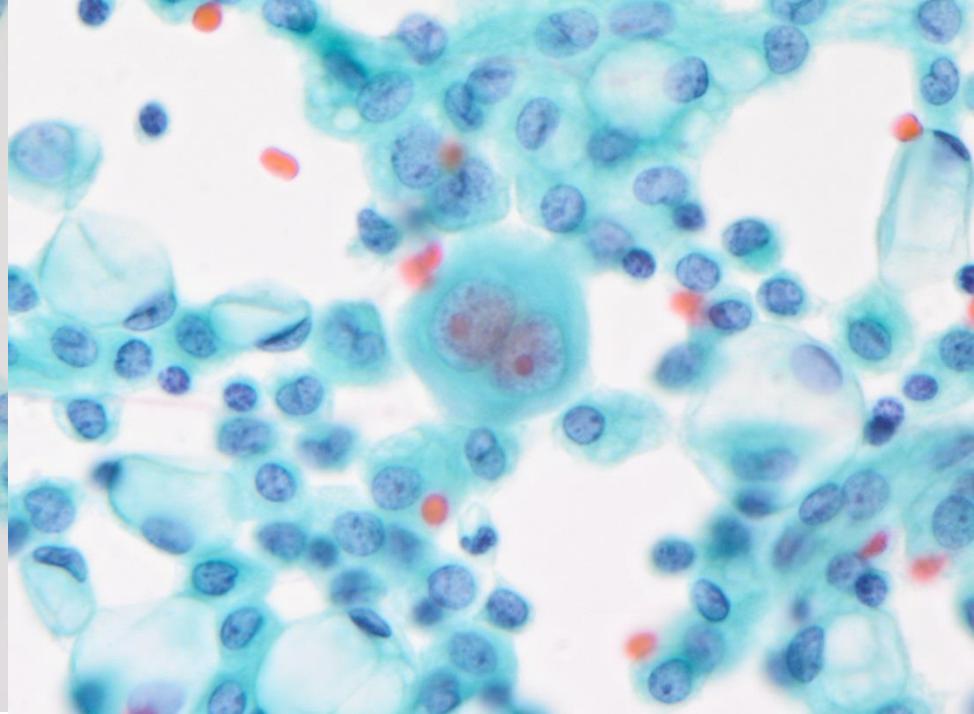
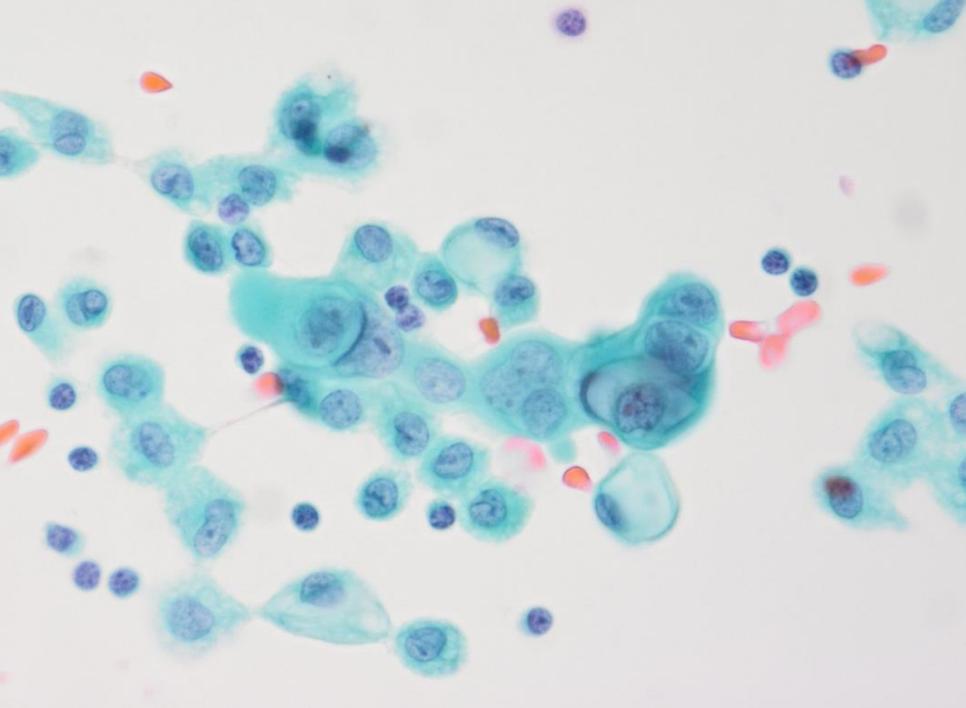
60代 男性

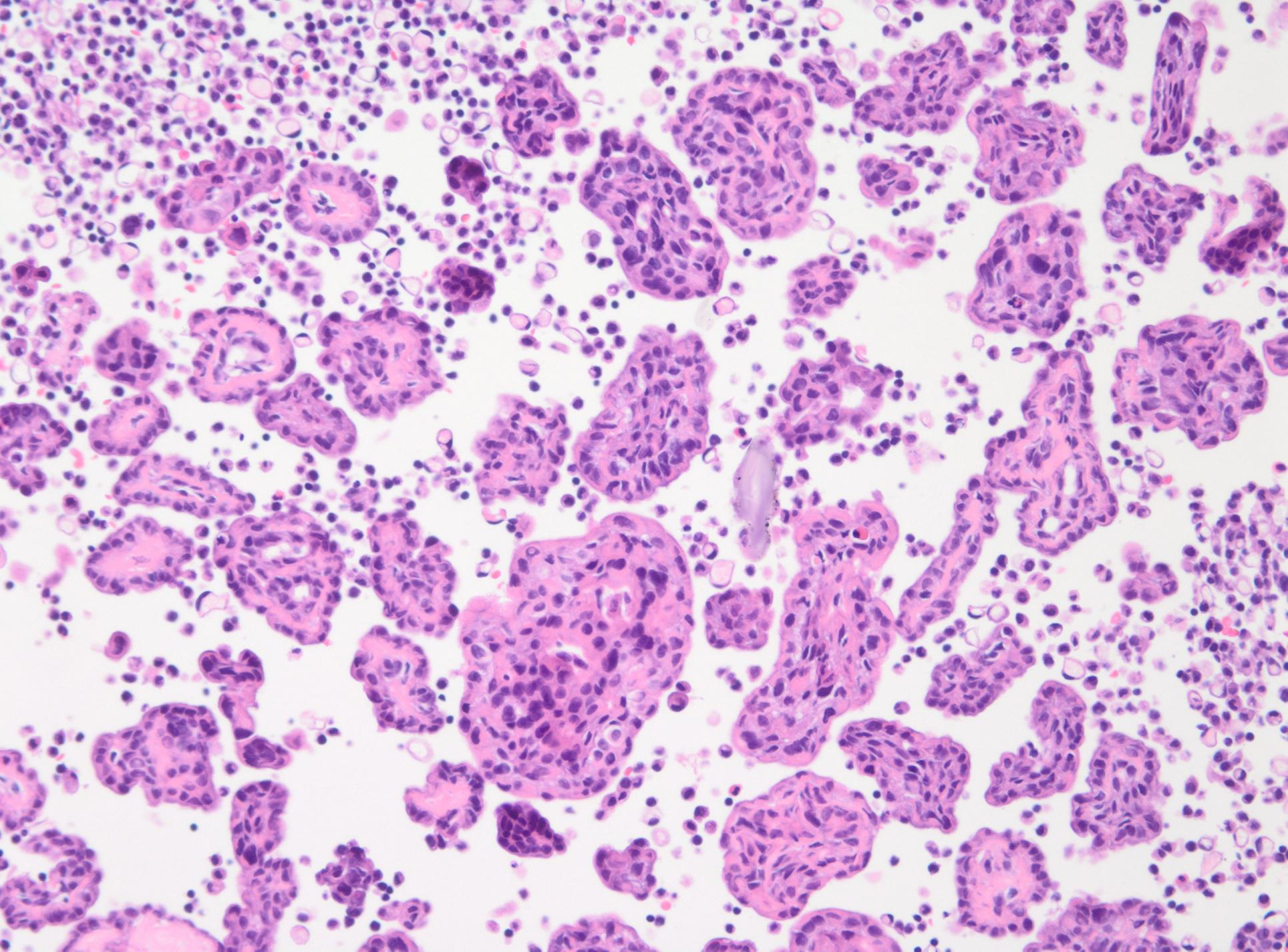
健診にて胸水指摘

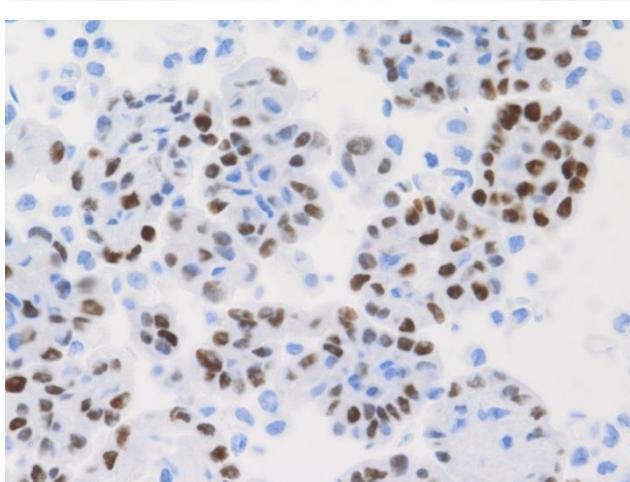
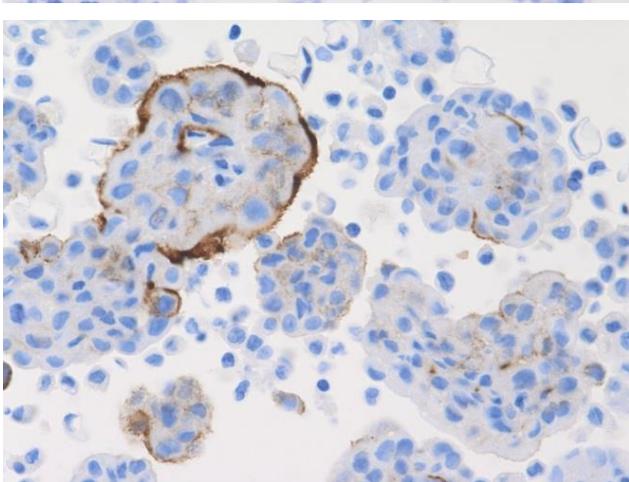
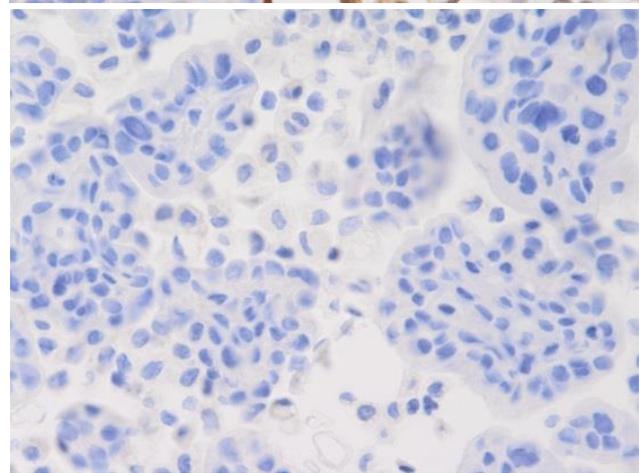
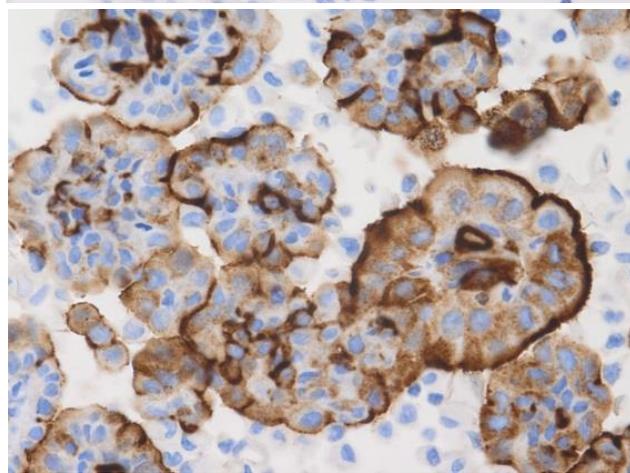
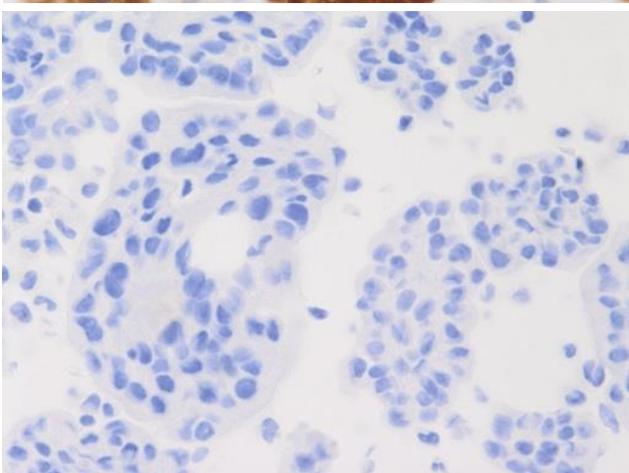
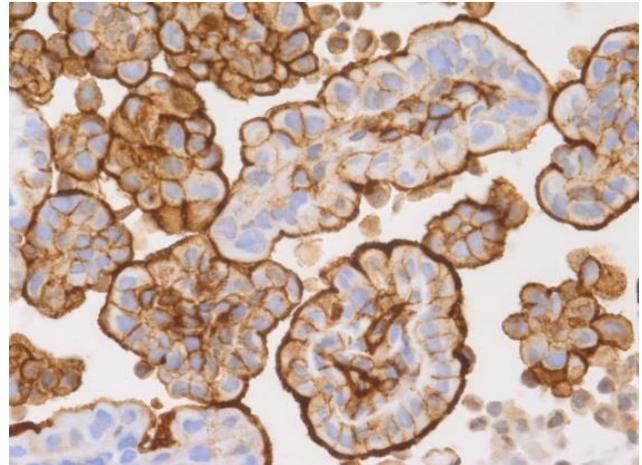
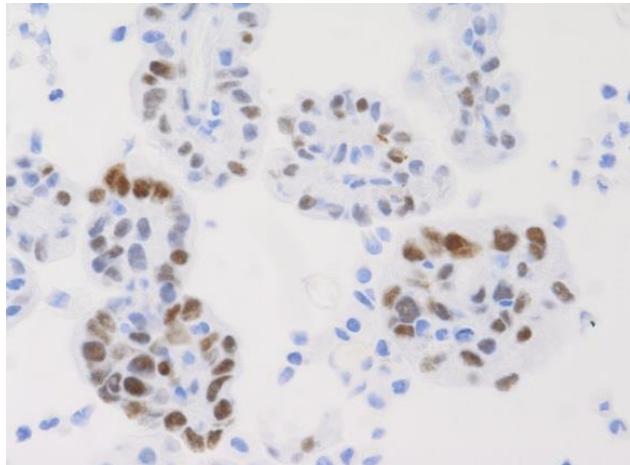
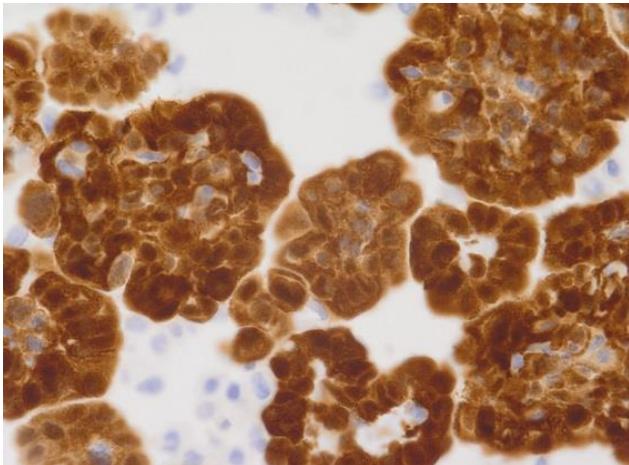
ヒアルロン酸: 45100 ng/ml

SLX: 44.1 U/ml









Calretinin	WT-1	D2-40
CEA	EMA	Desmin
CD146	p53	

中皮腫マーカー

Calretinin

WT-1

D2-40

肺腺癌マーカー

CEA

MOC31

TTF-1

中皮腫 vs 反応性中皮

EMA

Desmin

CD146

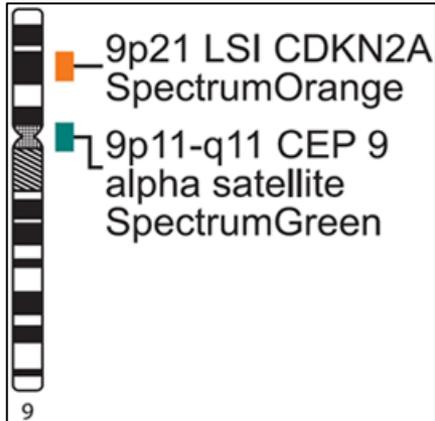
GLUT-1

IMP3

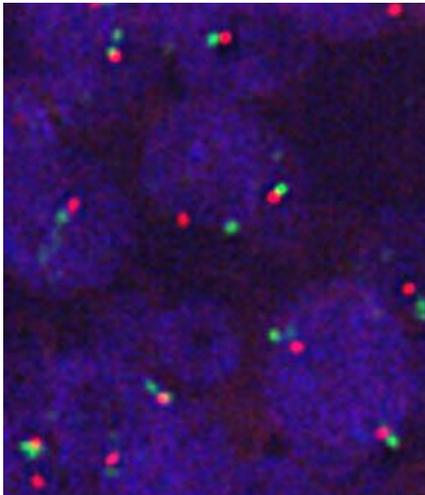
p53

症例2: p16 FISH結果

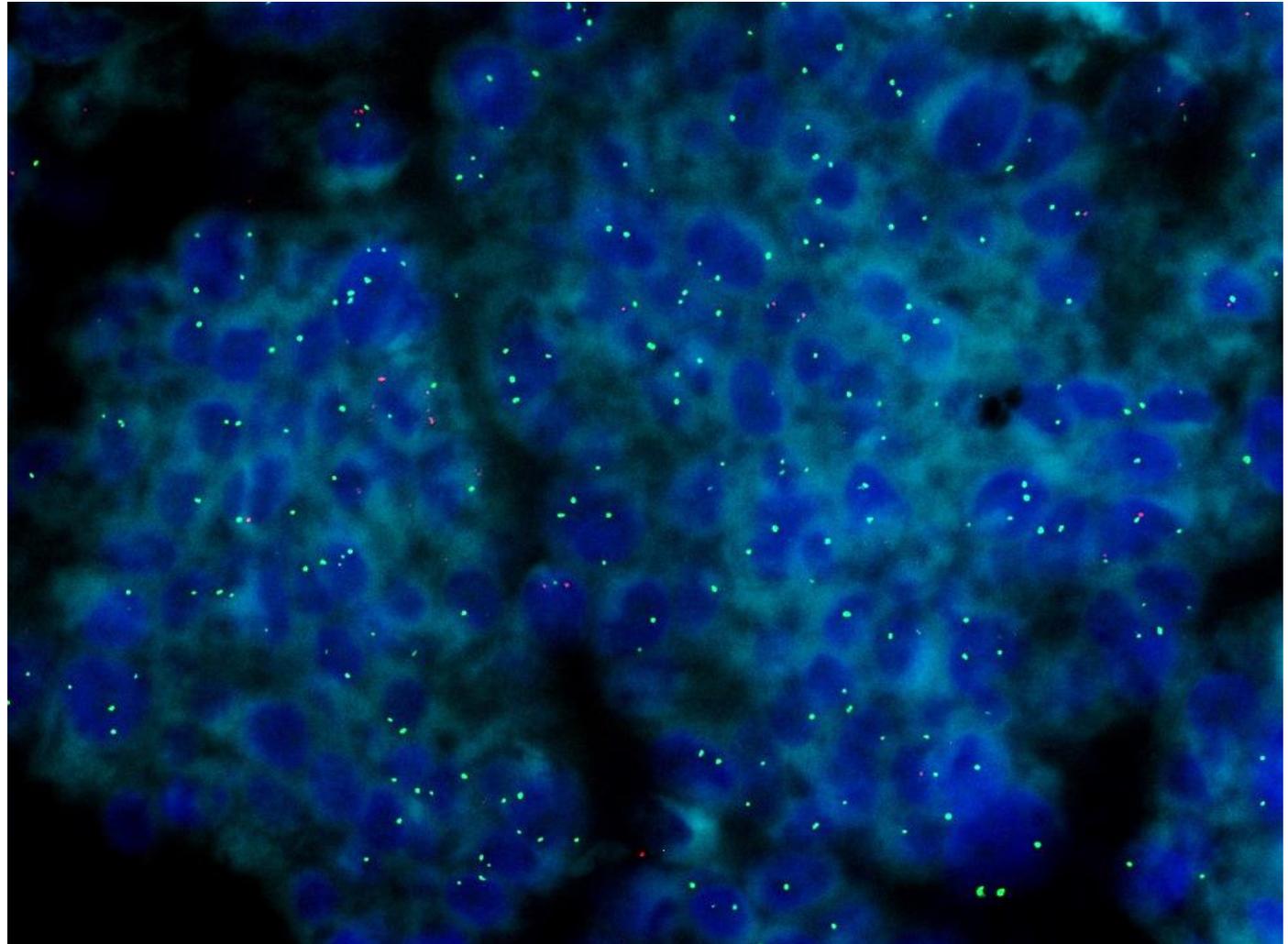
ほとんどの細胞にホモ欠失が認められた



Probeデザイン
Abbott HPより

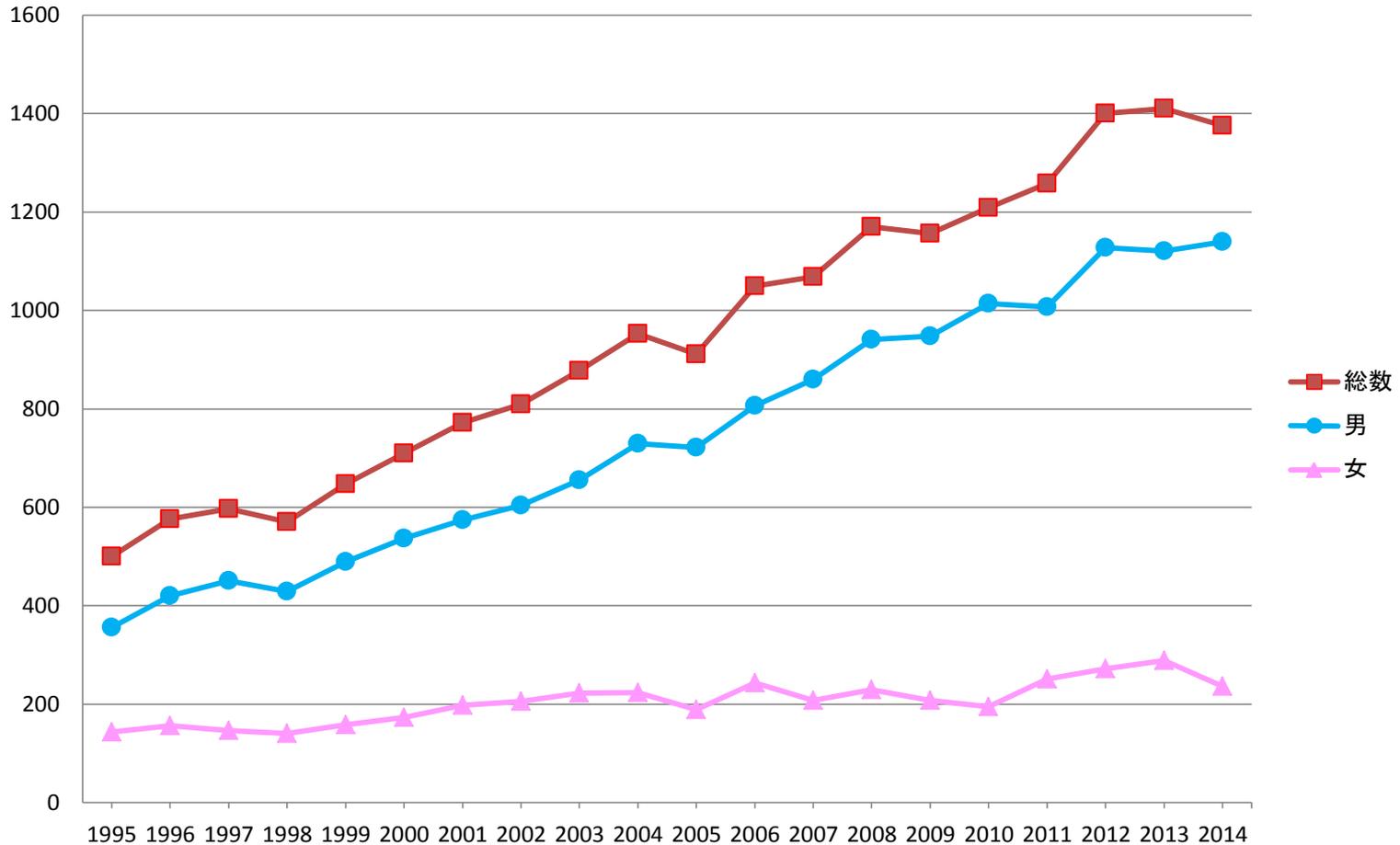


正常リンパ球



中皮腫死亡数の推移(1995～2014)

2030年～2035年に死亡者のピークを迎えると言われている



参考:厚生労働省人口動態統計・都道府県別中皮腫死亡数推移