

# 細胞診と免疫染色 ーセルブロック法についてー

愛媛県立中央病院 検査部  
兵頭直樹  
代読 大杉増美

# セルブロック法 ( Cell block method )

細胞材料を固形化し  
薄切標本を作製する方法

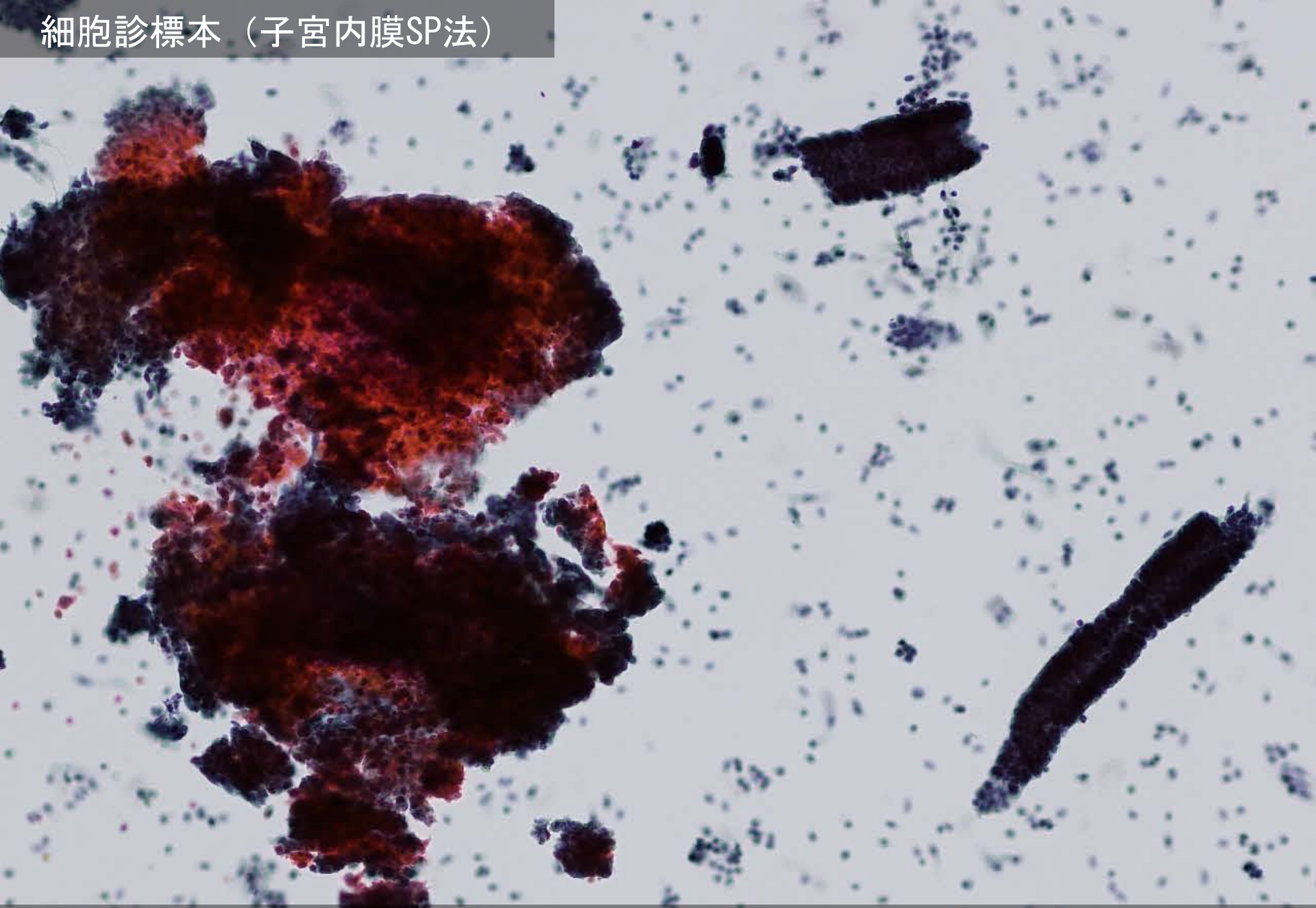
液状化検体  
細胞診法  
( LBC法 )



セルブロック法  
( CB法 )

液状化検体細胞診の  
残余細胞材料からも作製可能

細胞診標本（子宮内膜SP法）



細胞同士が重なり合い、詳細な観察が困難.

# 直接塗抹法 (従来法)



採取



塗抹



採取器具は、  
塗抹後廃棄  
される。

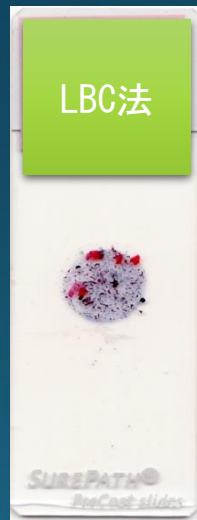


長期保存は、  
染色性に影響  
がある。

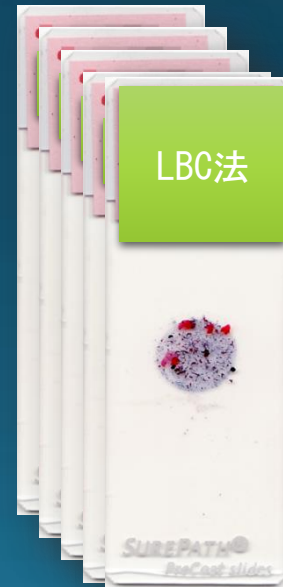
# LBC法



細胞材料



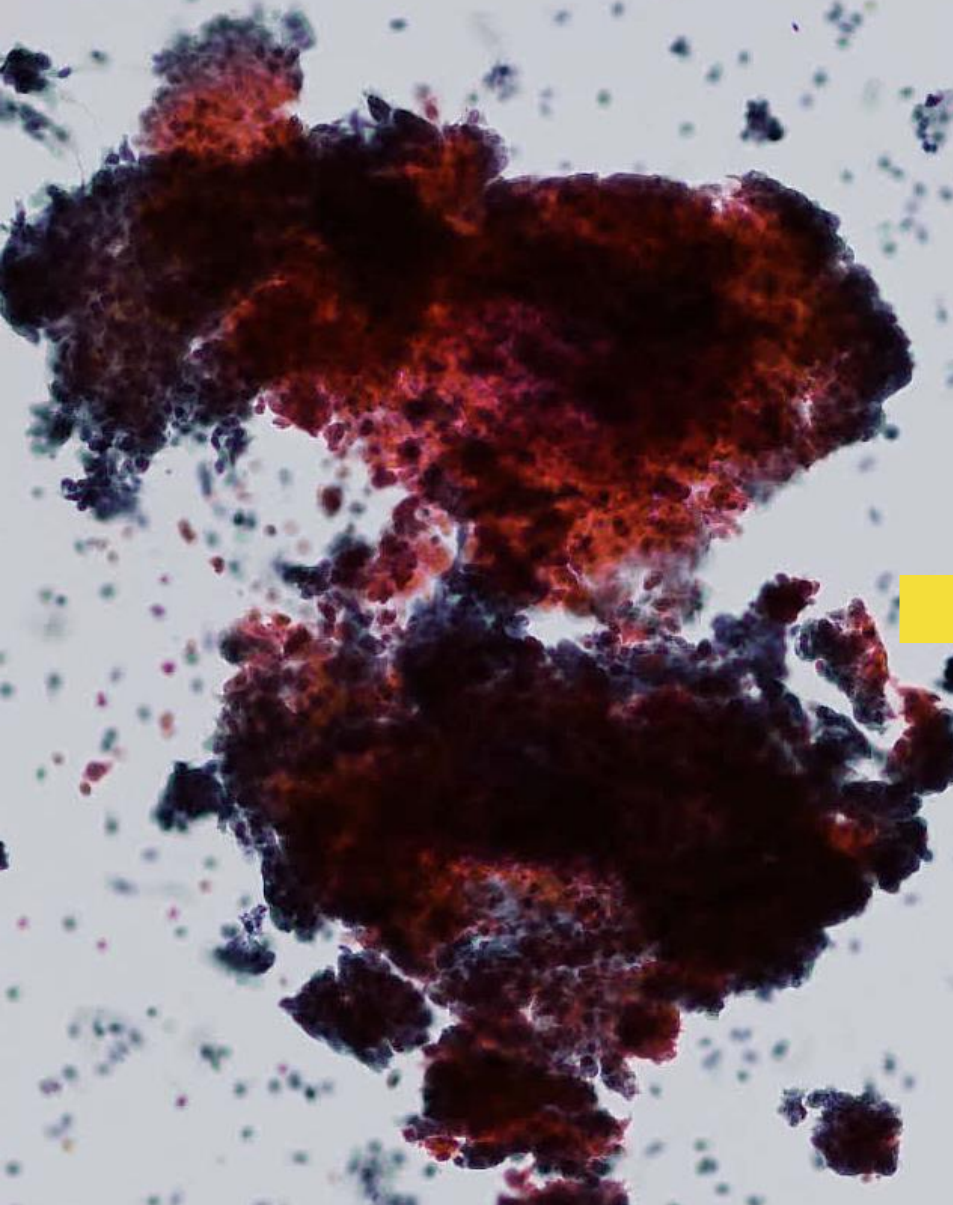
細胞診標本



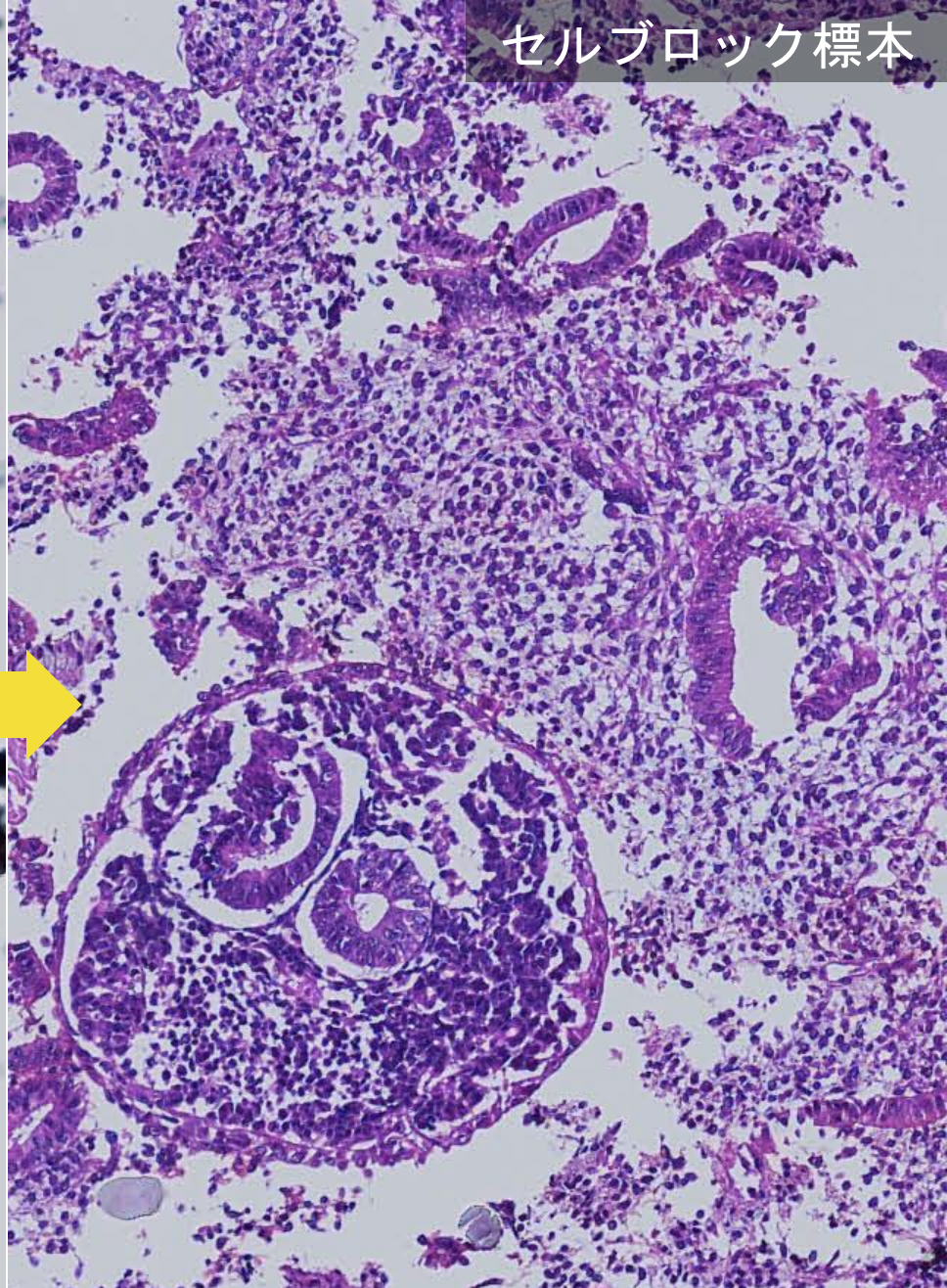
特殊染色や  
免疫細胞化学染色を施行

CB法比べ、  
作製枚数に  
限界がある。

細胞診標本



セルブロック標本



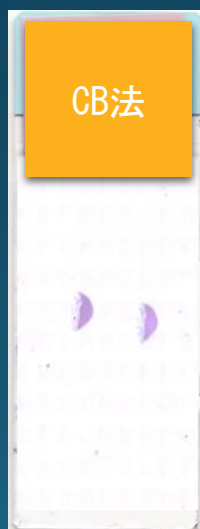
細胞集塊の構造を詳細に観察できる。



細胞材料



細胞診標本

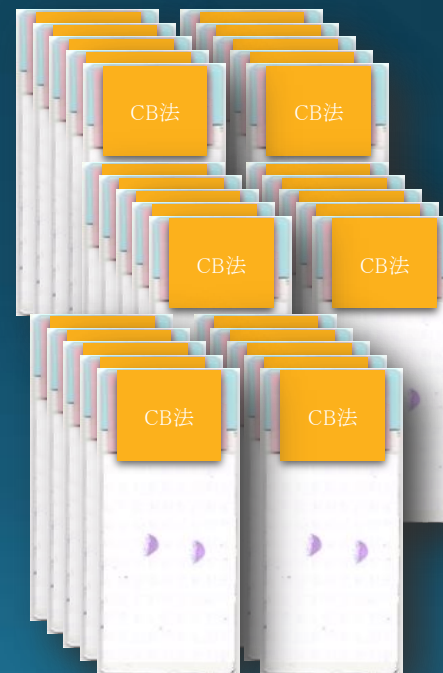


セルブロック標本

さらに、長期保存も可能



(パラフィンブロック)



均質な標本を多数作製可能

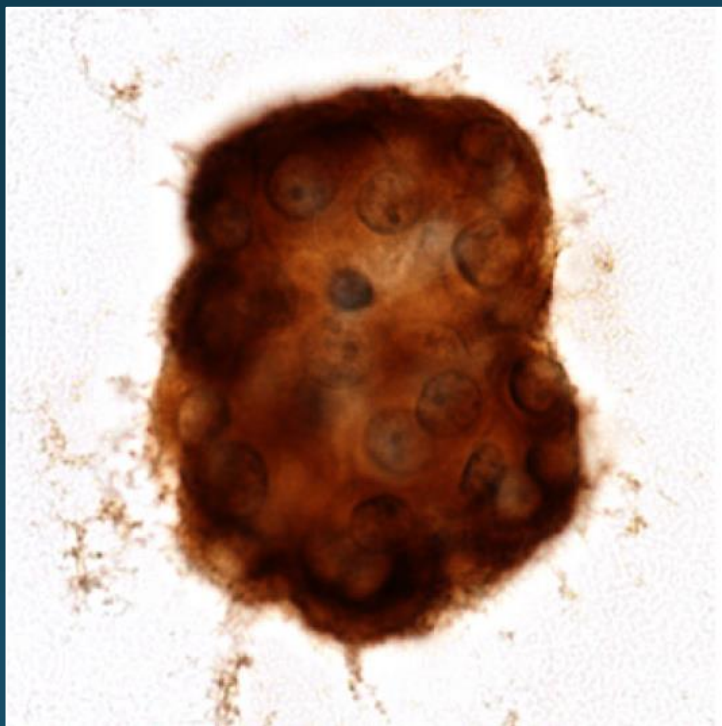
- ・ 体腔液などの液状材料
- ・ 組織採取が困難な材料



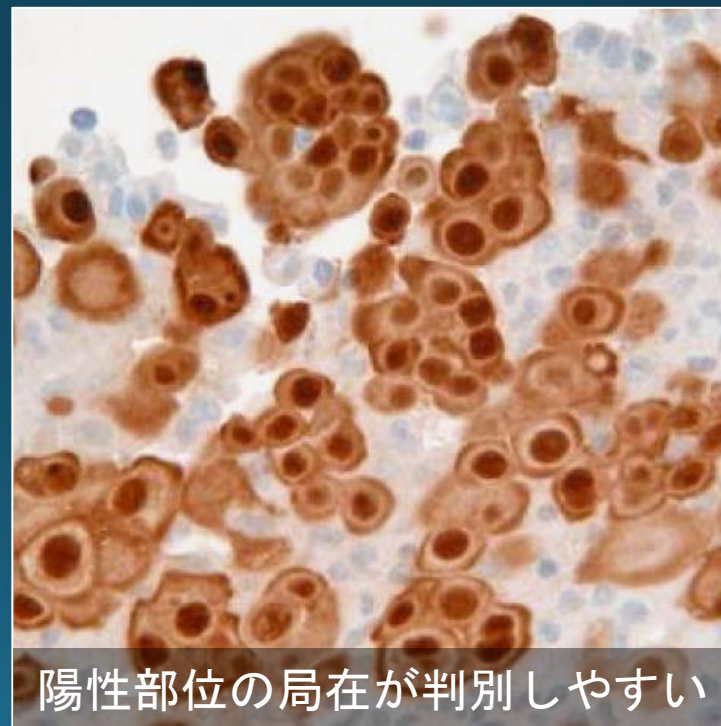
- ・ 特殊染色
- ・ 免疫組織化学染色
- ・ FISH法
- ・ 電子顕微鏡的検索



診断精度の向上

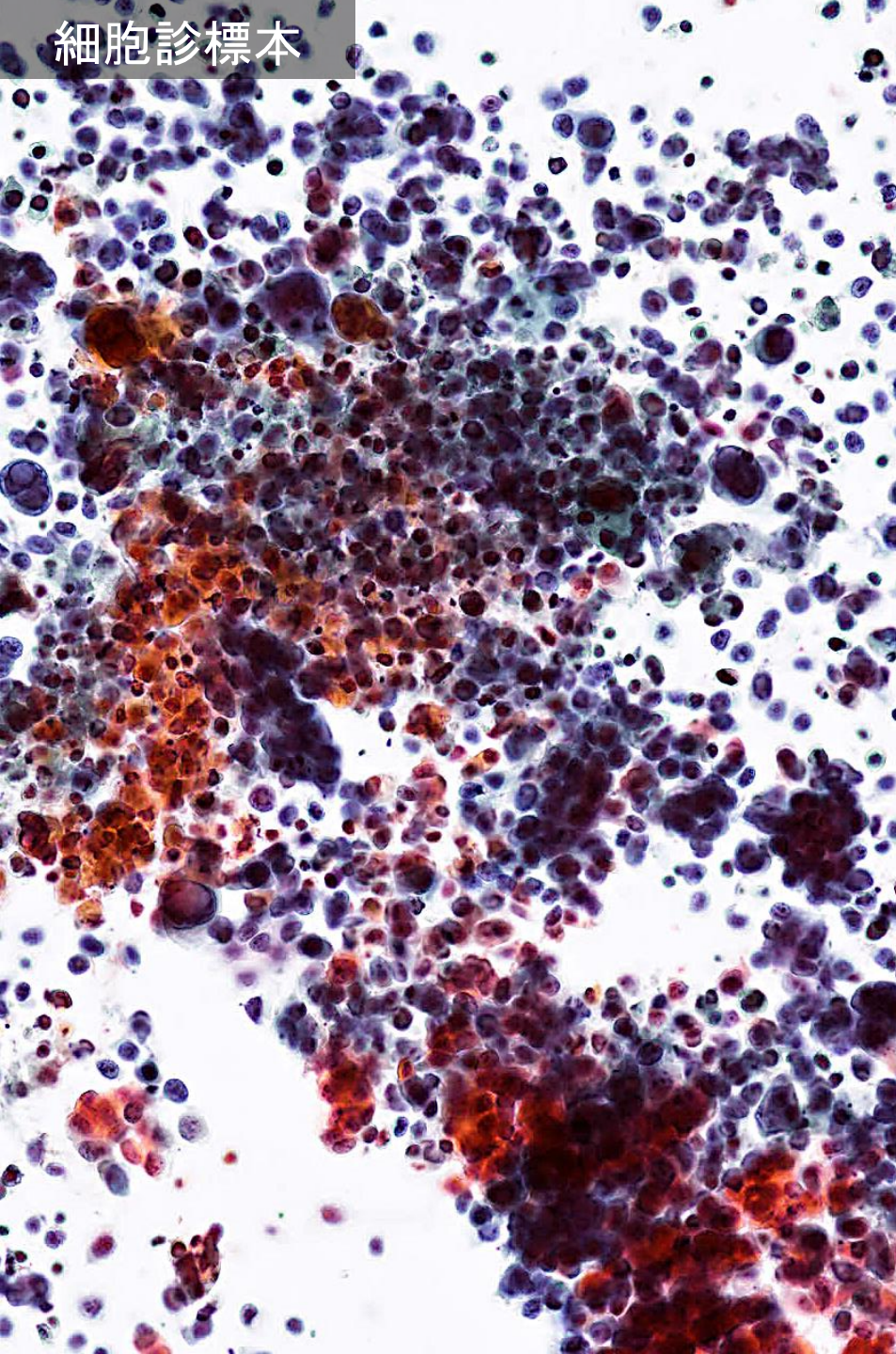


免疫細胞化学染色 ( Calretinin )

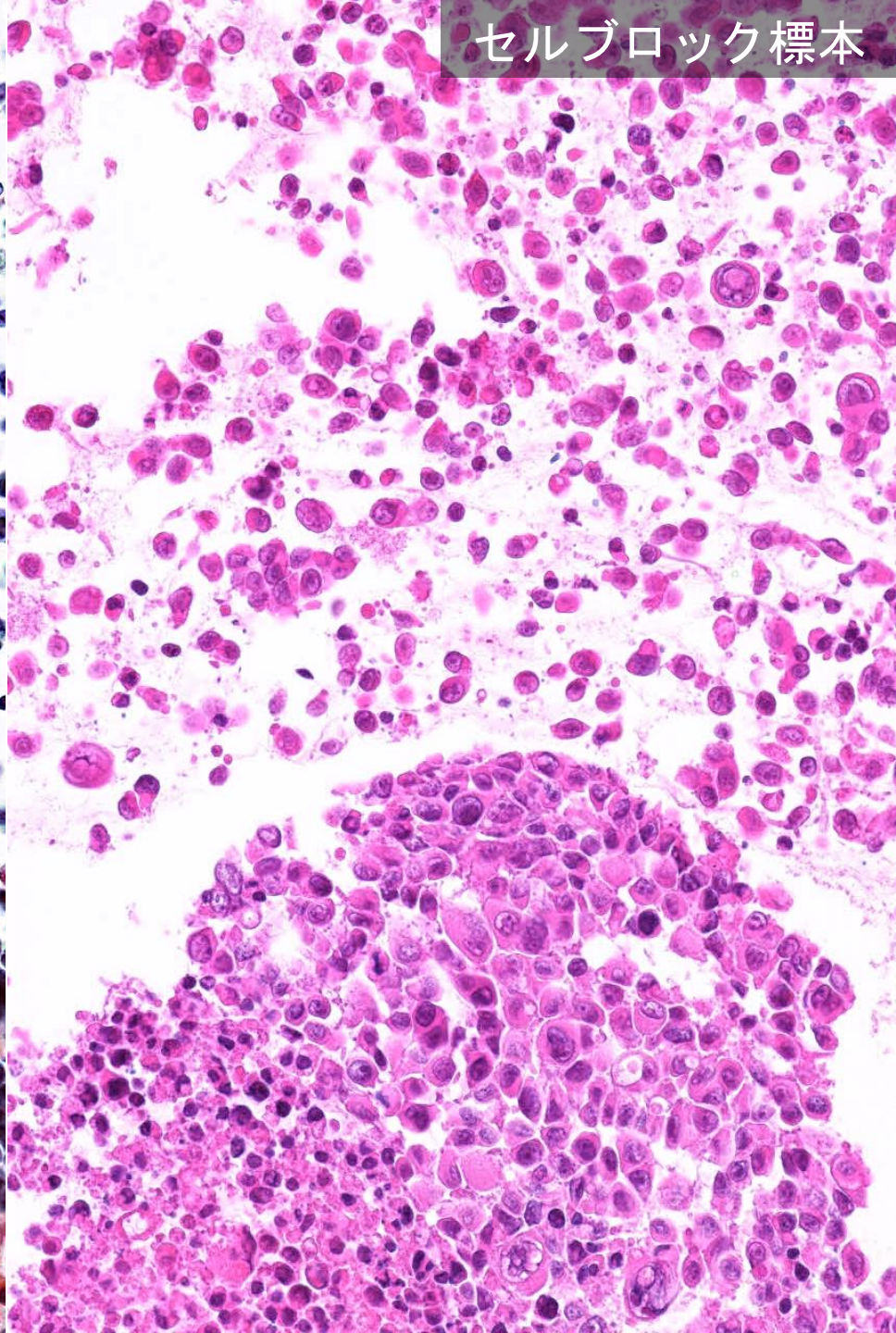


免疫組織化学染色 ( Calretinin )

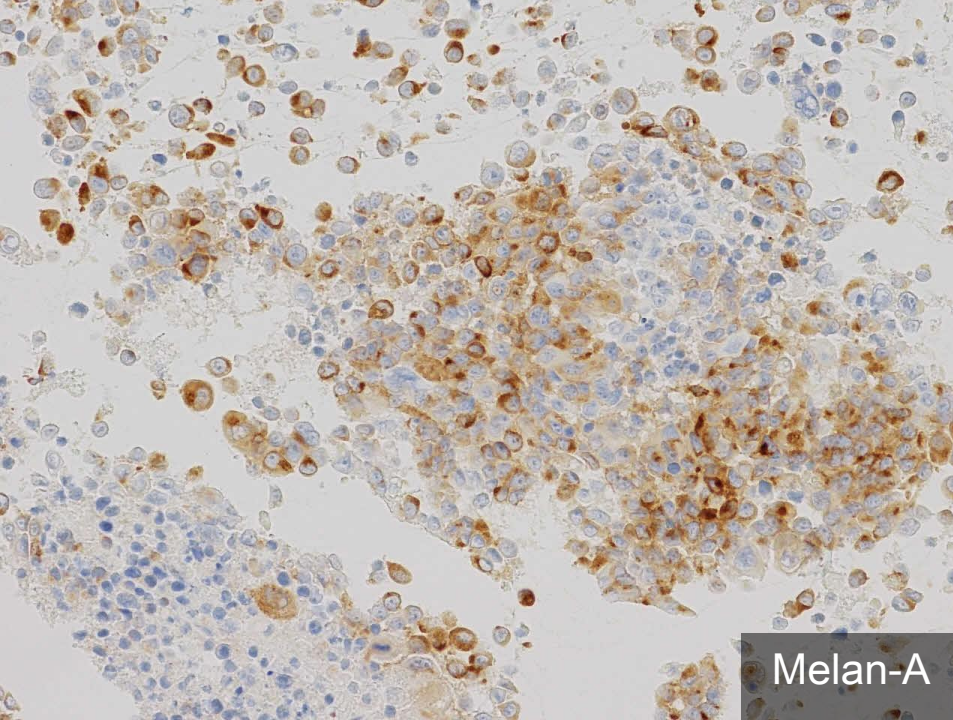
細胞診標本



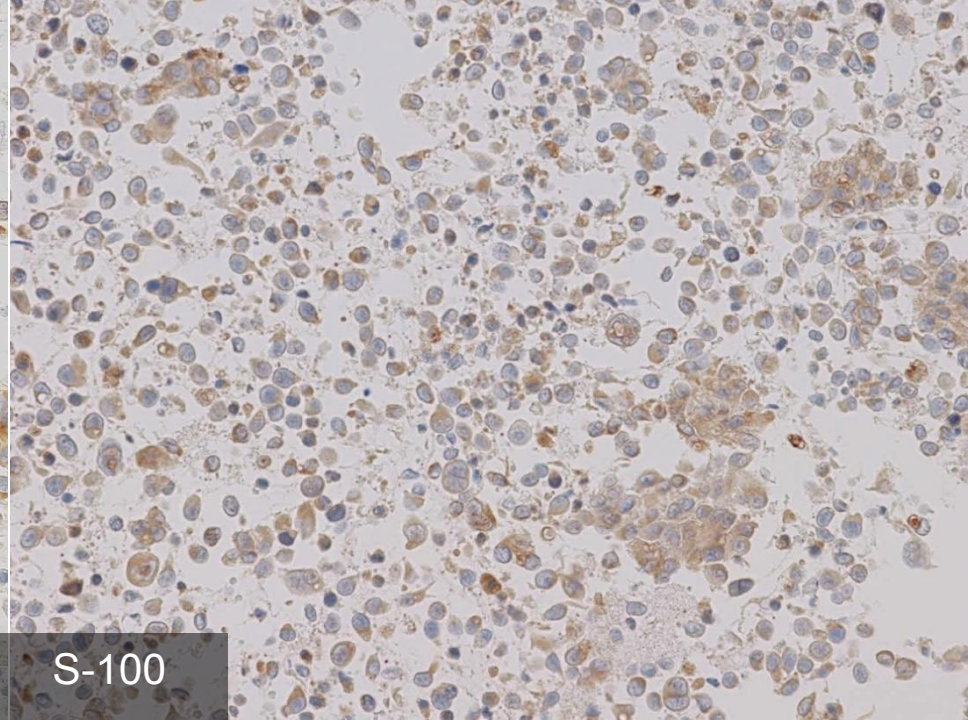
セルブロック標本



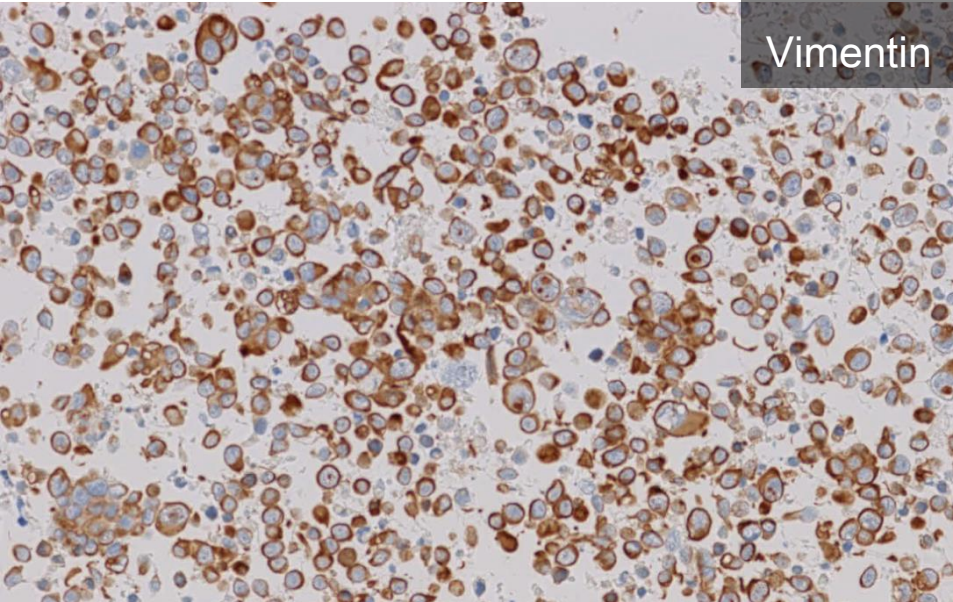




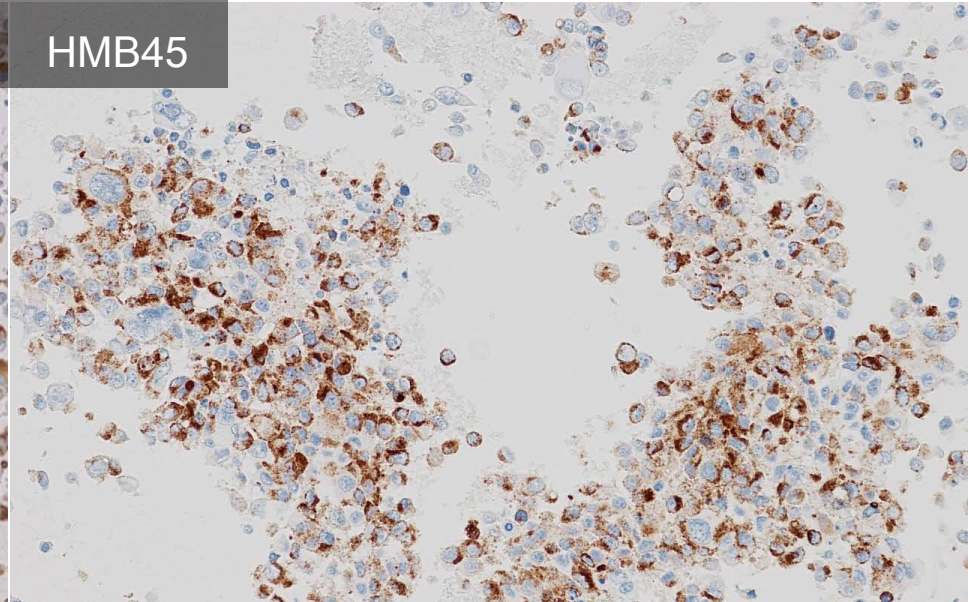
Melan-A



S-100



Vimentin

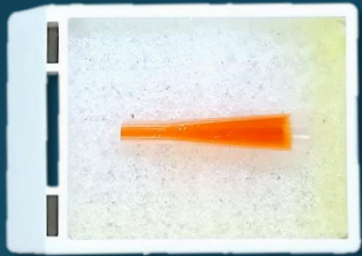
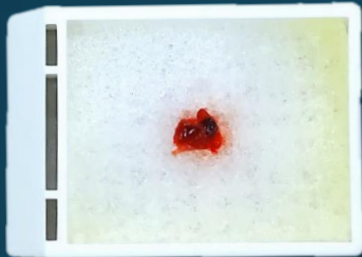


HMB45

無色素性悪性黒色腫と診断

# セルブロック作製方法

## 直接回収法



## 細胞固定法

寒天法

血液凝固因子法

アルギン酸  
ナトリウム法

など

## 遠心管法

サンプリング  
チューブ法

コロジオン  
バック法

など

作製方法により…

- ・ 細胞回収率が乏しい。(微量検体不可)
- ・ 背景に共染が見られる。
- ・ 標本作製に手間や時間がかかる。

# 新しいセルブロック作製法 (パラフィン・寒天サンドイッチ法)の考案と比較検討

愛媛県立中央病院 検査部 兵頭直樹



# 方法

## 1) 対象

- 2014年7月～2014年12月
- 体腔液7症例（腺癌5例，小細胞癌1例，悪性中皮腫1例）

## 2) セルブロック作製

- 標本作製後の残余検体を10%中性緩衝ホルマリンで6～12時間室温で固定
- 同一検体より3通りの細胞沈渣量（10  $\mu$ L， 50  $\mu$ L， 100  $\mu$ L）
- 4通りのCB作製（フィブリンクロット法，アルギン酸ナトリウム法，寒天法，パラフィン・寒天サンドイッチ法）

## 3) 比較

- 各々の細胞数および標本の染色性

## A : フィブリンクロット法

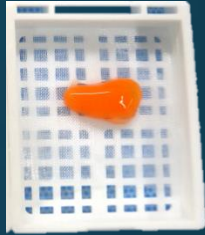
沈渣に約半量の0.1%  
フィブリノゲン溶液を  
加えて混和する



フィブリノゲン溶液の  
半量のトロンビンを  
注入し静置する



数分後、形成された  
フィブリンクロットを  
パラフィン包埋する



## B : アルギン酸ナトリウム法

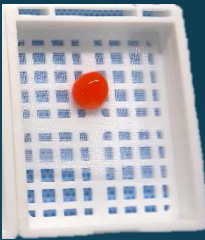
沈渣に1%アルギン酸  
ナトリウム0.5mLを  
加えて混和する



3,000rpm・5分遠心



10%塩化カルシウムを加え  
ゲル化した沈渣を  
パラフィン包埋



## C : 寒天法

沈渣に加熱溶解した  
2%寒天を加え  
軽く攪拌する



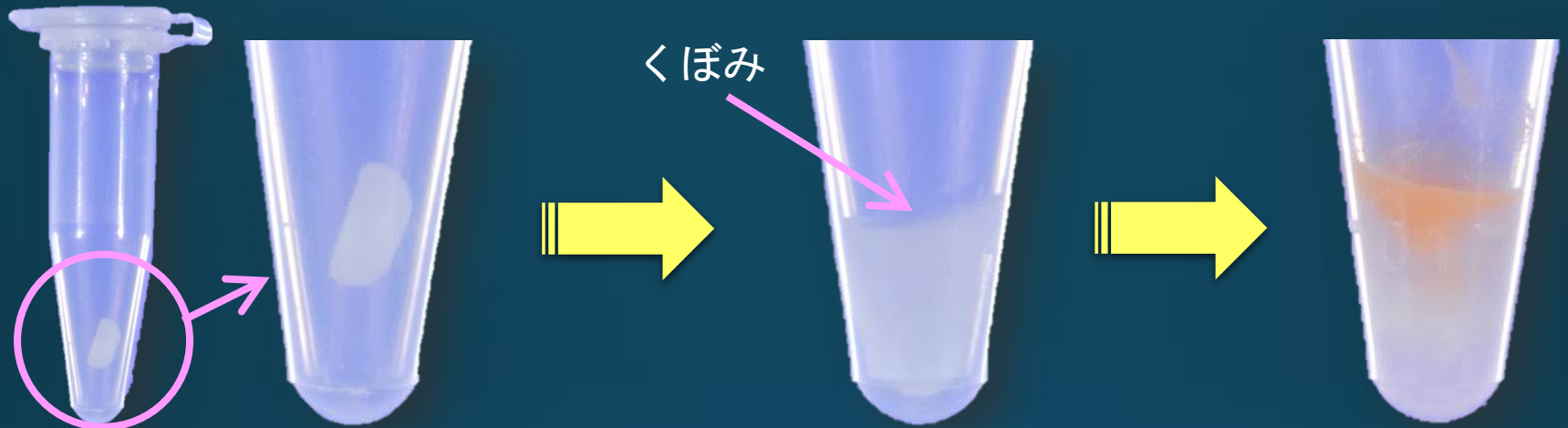
3,000rpm・2分遠心  
室温で冷却固化する



遠心管から  
寒天を取り出し  
パラフィン包埋を行う

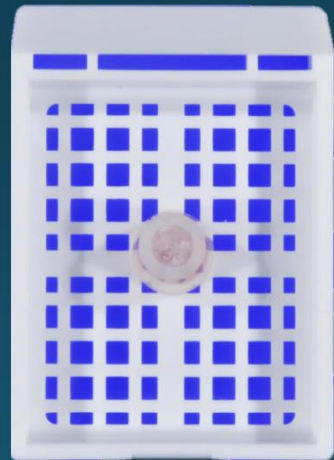


# D : パラフィン・寒天サンドイッチ法

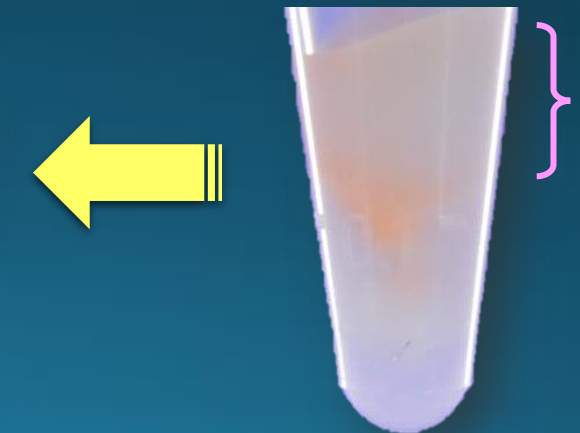
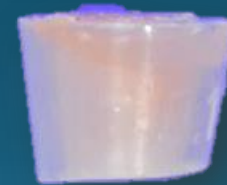


マイクロチューブにパラフィンを1粒入れ融解

細胞沈渣をくぼみに加え遠心



マイクロチューブを切断しパラフィン包埋



寒天を沈渣の上に重層し遠心

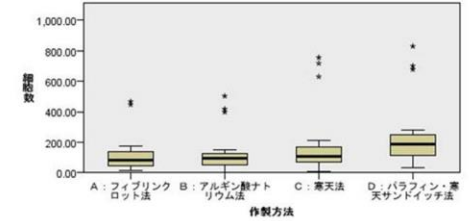
# 分散分析と多重比較 (100 $\mu$ L)

## 仮説検定の要約

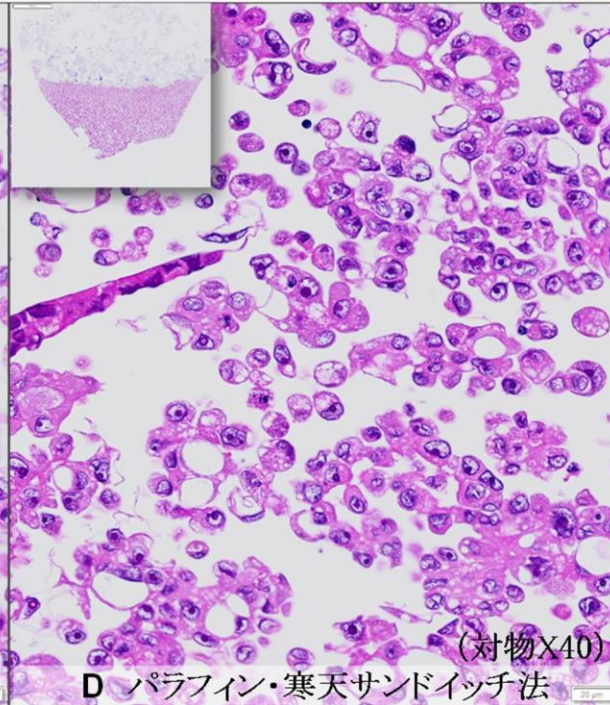
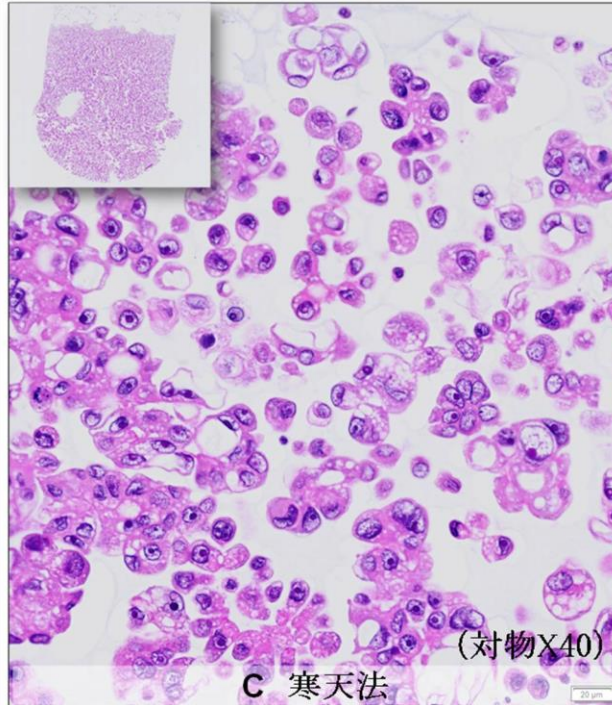
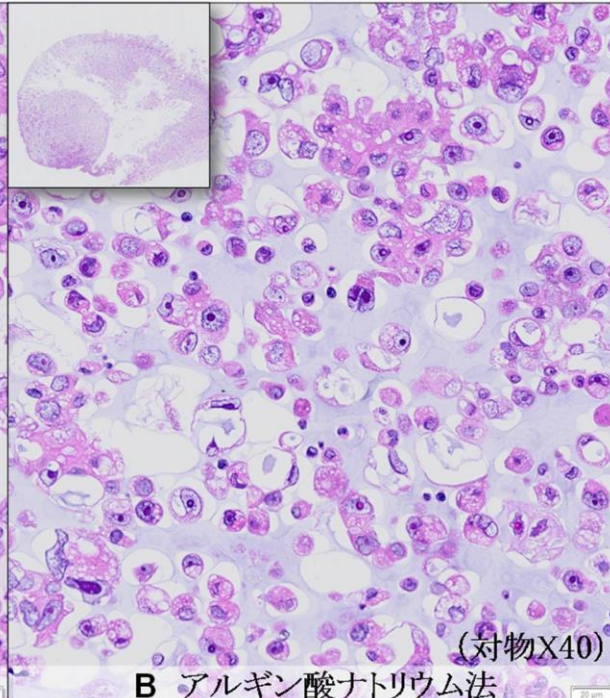
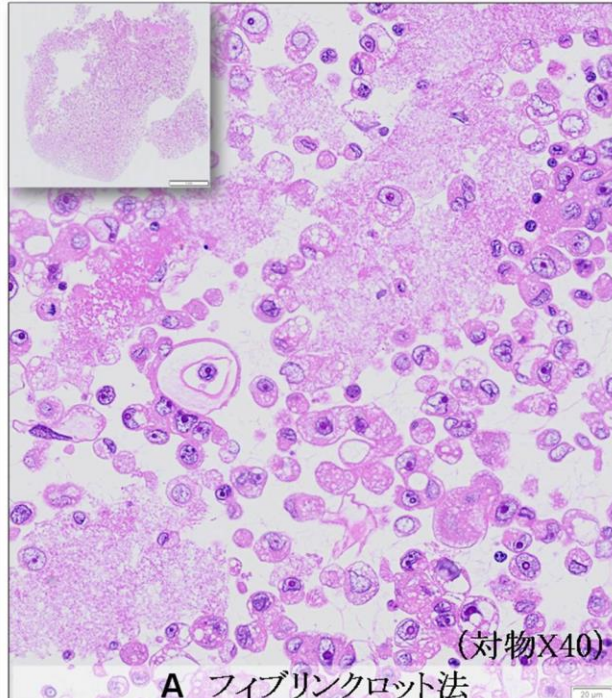
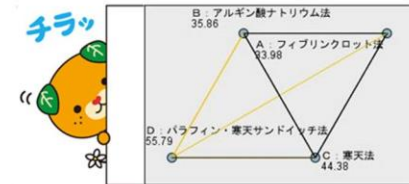
帰無仮説	検定	有意確率	決定
1 細胞数の分布は 作製方法のカテゴリで同じです。	独立サンプルによる Kruskal-Wallis の検定	.015	帰無仮説を棄却します。

漸近的な有意確率が表示されます。有意水準は .05 です。

## 独立サンプルによる Kruskal-Wallis の検定



## 作製方法のペアごとの比較



各ノードには 作製方法の平均順位が表示されます。

サンプル1-サンプル2	検定統計	標準エラー	標準検定統計	有意確率	調整済み有意確率
A : フィブリンクロット法-B : アルギン酸ナトリウム法	-1.881	7.527	-.250	.803	1.000
A : フィブリンクロット法-C : 寒天法	-10.405	7.527	-1.382	.167	1.000
A : フィブリンクロット法-D : パラフィン・寒天サンドイッチ法	-21.810	7.527	-2.897	.004	.023
B : アルギン酸ナトリウム法-C : 寒天法	-8.524	7.527	-1.132	.257	1.000
B : アルギン酸ナトリウム法-D : パラフィン・寒天サンドイッチ法	-19.929	7.527	-2.647	.008	.049
C : 寒天法-D : パラフィン・寒天サンドイッチ法	-11.405	7.527	-1.515	.130	.778

各行は、サンプル1とサンプル2の分布が同じであるという帰無仮説を検定します。漸近的な有意確率 (両側検定) が表示されます。有意水準は .05 です。

細胞沈流量	有意差を認めた組み合わせ
10 $\mu$ L および 50 $\mu$ L	A フィブリンクロット法 $\leftrightarrow$ C 寒天法 $\leftrightarrow$ D パラフィン・寒天サンドイッチ法
100 $\mu$ L	A フィブリンクロット法 $\leftrightarrow$ D パラフィン・寒天サンドイッチ法 B アルギン酸ナトリウム法 $\leftrightarrow$

# まとめ

- 細胞塊や細胞沈渣量が十分量（おおよそ200  $\mu$ L以上）なら、直接回収法が実施可能.
- どのセルブロック法が一番すぐれているかを考えるよりも、状況に応じて原理の異なるセルブロック法を使い分けられることが大切.

## Keyword

「うまい」 . . . . . きれいで確実に.  
「やすい」 . . . . . 安価で簡単に.  
「はやい」 . . . . . すばやく短時間で.



※写真は並盛です.