

第24回愛媛県臨床細胞学会総会ならびに学術集会

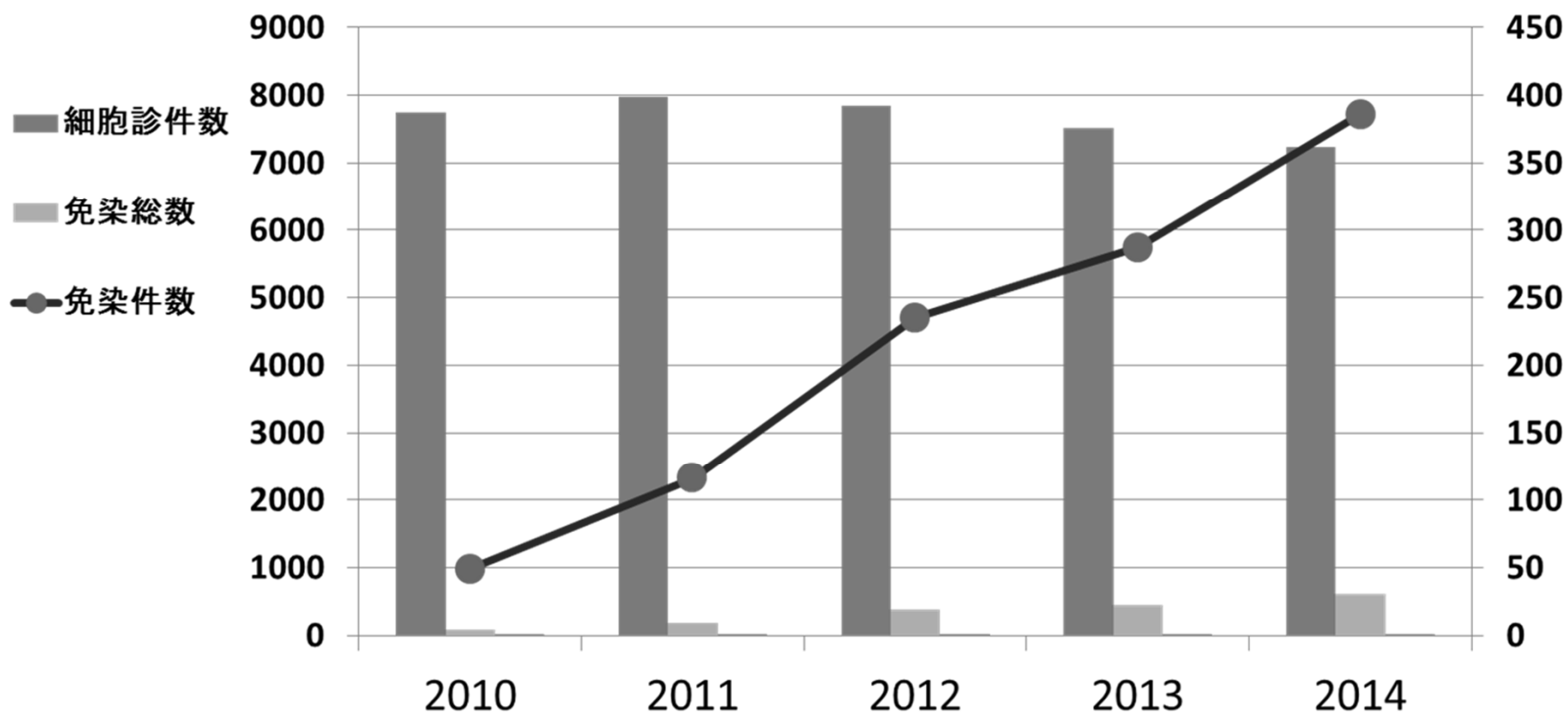
細胞診と免疫染色

～当院の細胞診材料を用いた
免疫染色の現状と、
アンケート調査結果について～

松山赤十字病院 病理診断科部

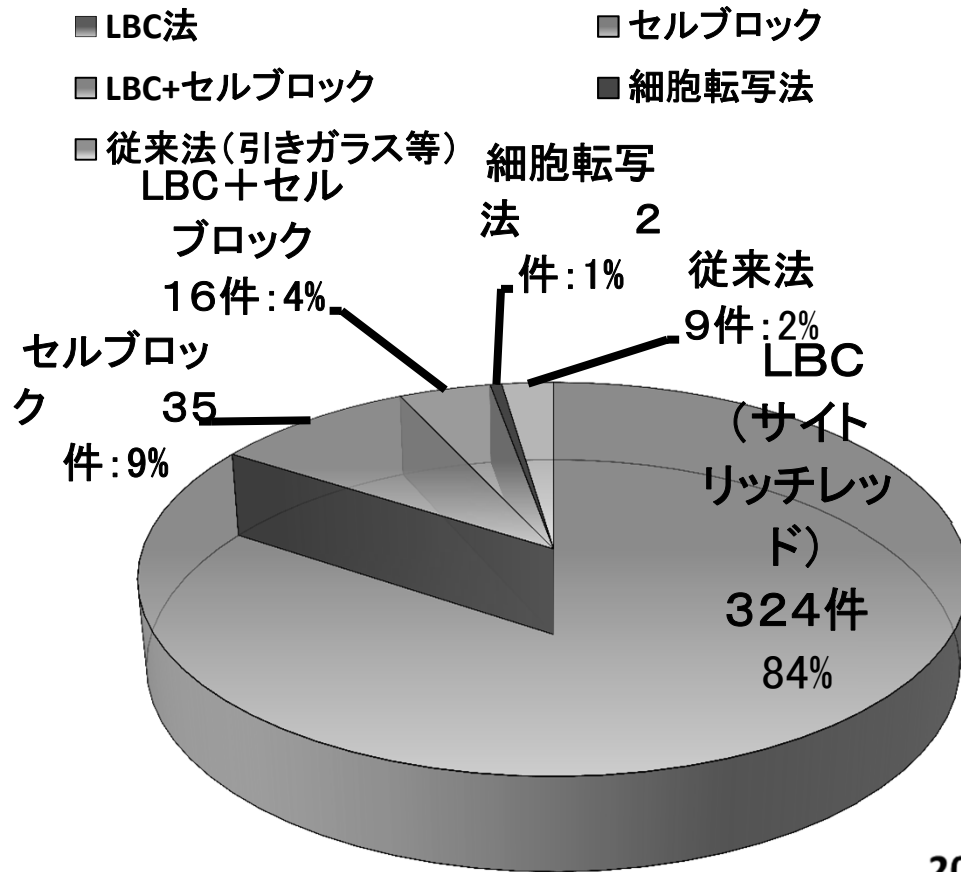
高石治彦, 吉田彩乃, 坂本真吾, 本吉知里, 三好陽子, 窪田裕美,
古本好江, 門屋孝志, 池田みか, 飛田 陽, 大城由美

➤細胞診免疫染色件数(2010～2014)

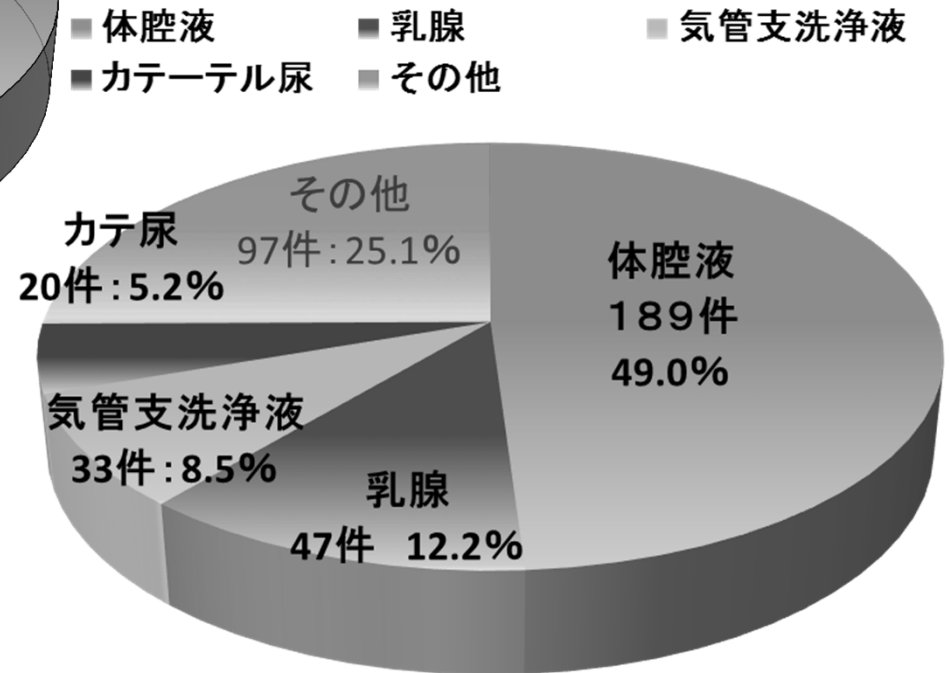


	2010	2011	2012	2013	2014
細胞診件数	7752	7979	7839	7514	7233
免染件数	49	116	235	287	386
免染総数	79	176	381	454	606
比率	0.63%	1.45%	3.00%	3.82%	5.34%

➤ 免疫染色標本作製方法(386件/2014年)

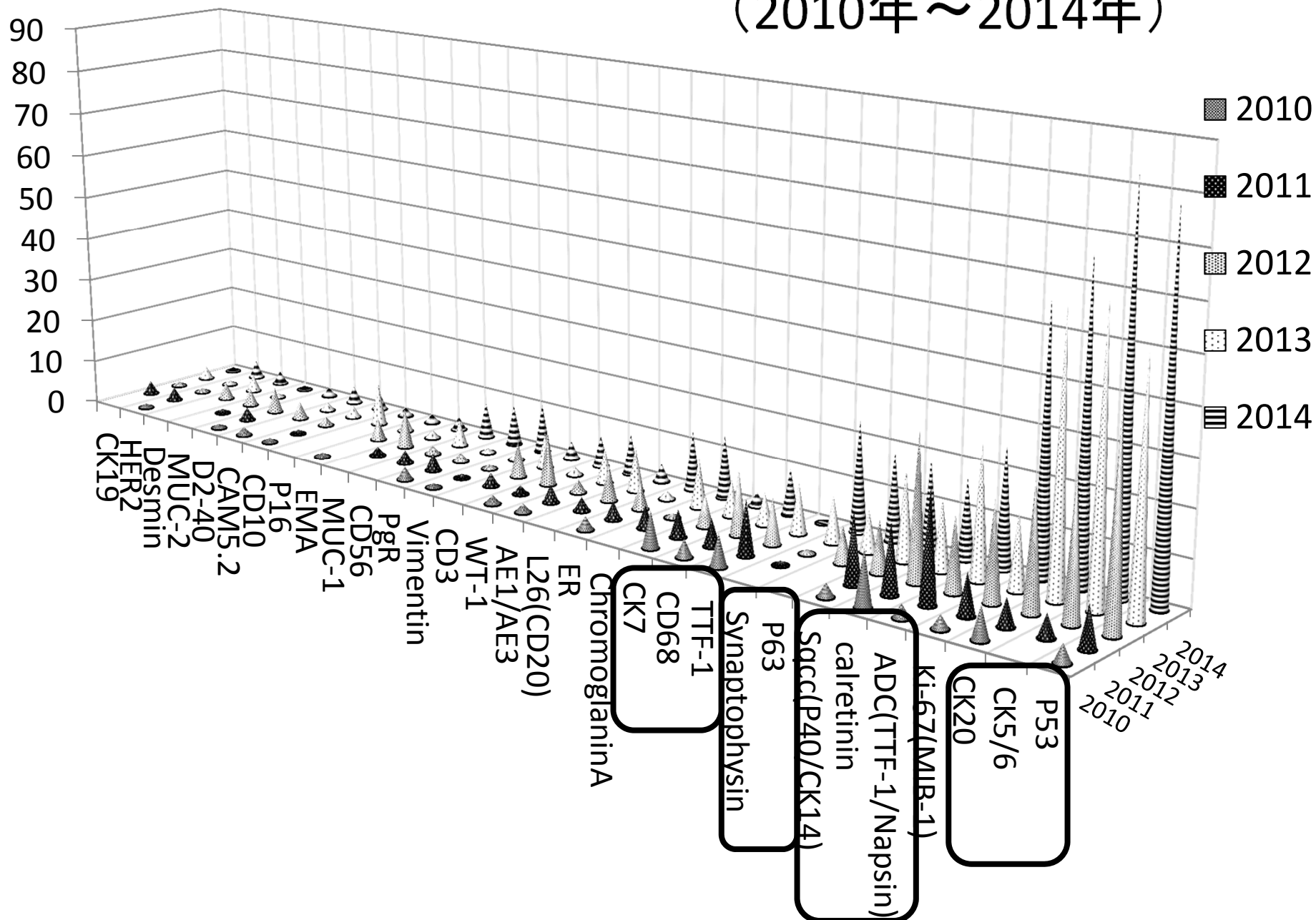


➤ 検体材料別(免疫染色386件/2014年)



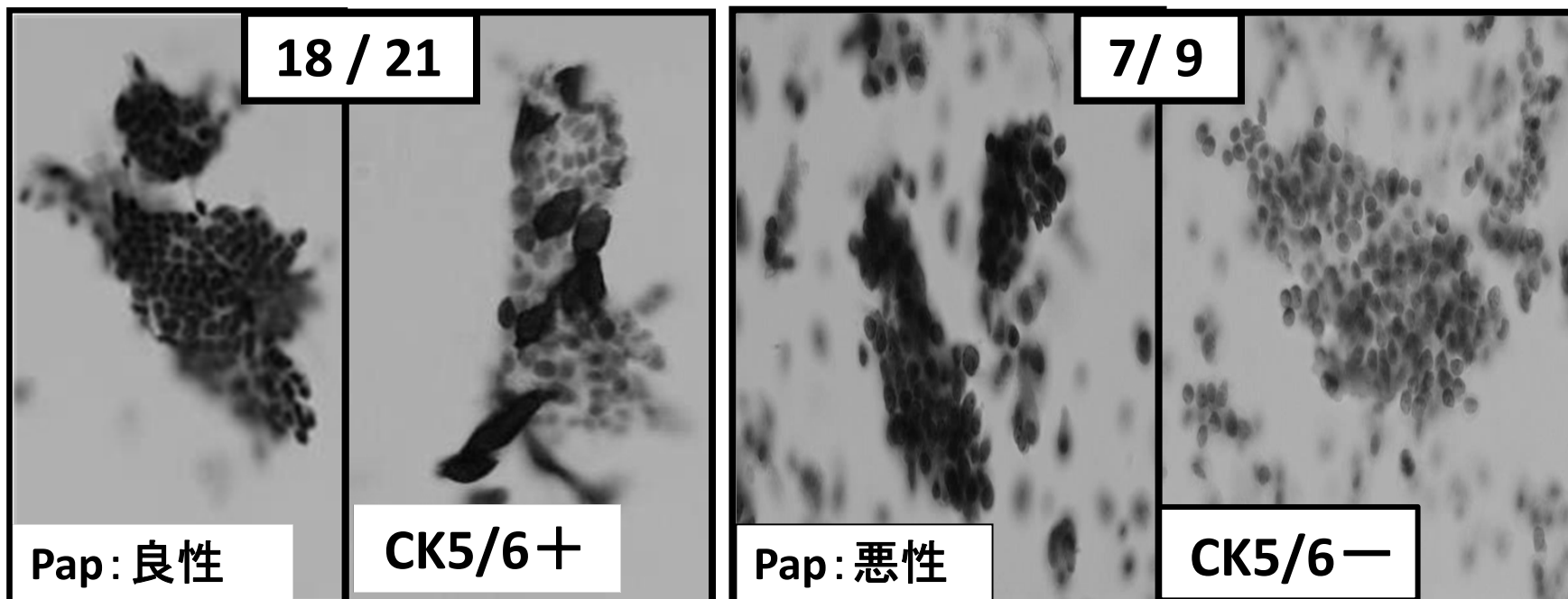
➤細胞診における免疫染色項目の推移

(2010年～2014年)

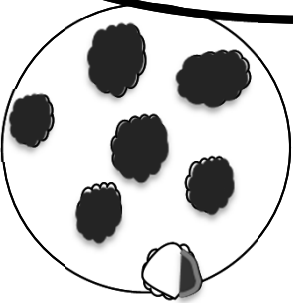
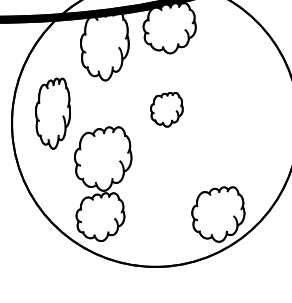
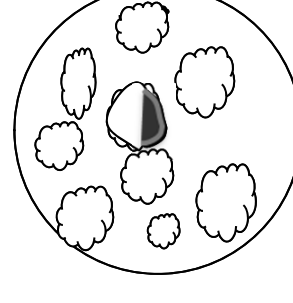
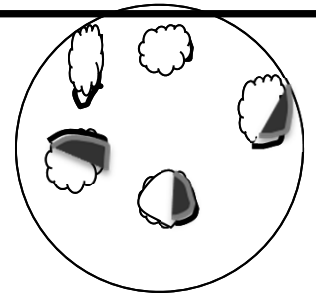
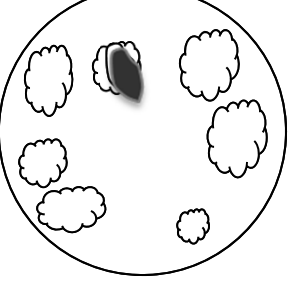
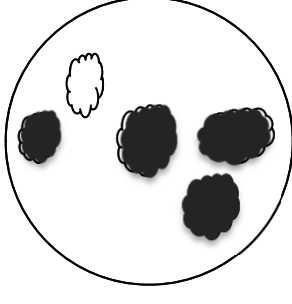
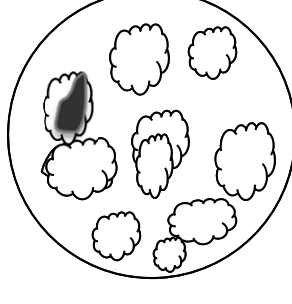



➤ 乳腺FNA. CK5/6免疫染色は、
 良性で陽性、悪性で陰性となる

最終診断	CK5/6 所見を加味した LBC 判定				合計*
	良性	鑑別困難	悪性疑い	悪性	
良性	21*	2	1		24
悪性		1		9	10



組織診と、カテーテル尿LBC標本での染色態度(模式図)

組織診	CK20 パターン	CK5/6 パターン	陰性 パターン	その他	正常
CK20					
CK5/6					
悪性27例	11/27例	6/27例	2/27例	7/27例	悪性所見なし 3例
細胞診					
CK20					
CK5/6					

✓ 細胞診 免疫染色の課題点

① 免疫組織化学(IHC)にはエビデンスがあるが、免疫細胞化学(ICC)にはエビデンスがない

・各抗体メーカー(Dako等)としては、細胞診検体における免疫染色に関してはサポートしていない(推奨していない)

② フォルマリン固定によるパラフィン切片と違い、アルコールやLBCなどの固定条件や、セルブロックなど、標本作製方法の施設間差

・細胞保存液の種類による、染色性への影響、作成枚数に限りがあり、抗体の絞り込み

③ 免疫染色プロトコールは固定条件において、抗原賦活時間、抗体希釈、酵素処理等の設定条件の変更が必要

・抗原賦活処理(温度・時間・PH)
・酵素処理の有無
・抗体希釈率

④ 保険点数算定が出来ないため、ランニングコストに問題あり

・サービス労働的な一面があるため、項目を絞り、効率的な運用が大切

✓アンケート調査票(18施設:東予7、中予:8、南予3)

<<アンケート調査 シンポジウム”細胞診と免疫染色”について>>

アンケート(設問Q1~Q23:表裏面あり)に、ご協力をお願いします。(提出締切日は、10月16日(金曜)です。)

施設名 _____ 回答者 _____

【組織検査について】

- Q1 免疫染色の実施の有無
 1. 行っていない } Q2へ
 2. 全て外注 }
 3. 用手法 } Q3へ
 4. 自動免疫染色機器 }
 5. その他 ()
- Q2 Q1で、免疫染色を自施設で行っていない(1 or 2)と答えた施設のみ、お答えください
 1. 導入予定
 2. 検討中
 3. 考えていない
 4. その他 ()

【細胞診検査について】

- Q3 細胞診検体の取扱いについて、選択・記入ください
 1. 受付・検体処理まで、(診断は外注へ依頼)
 2. 非常勤病理医の診断(施設内で実施)
 3. 常勤病理医の診断(施設内で実施)
 4. その他 ()
- Q4 標本作製時、残検体(沈渣など)を固定保存などを行っていますか？選択・記入ください
 1. 通常、保存している
 2. 診断結果報告まで、保存している
 3. 標本作製時、廃棄している。
 4. その他 ()
- * 保存方法、固定液など種類を記入ください
 保存方法: _____
- Q5 Q3で、2~3と答えた施設について
 細胞診検体での免疫染色について、選択ください
 1. 行っていない ⇒ Q6へ
 2. 行っている ⇒ Q8へ

* Q5で、1.行っていないと答えた施設のみ、お答えください

- Q6 免疫染色を行わない理由を、選択・記入ください
 1. マンパワーが不足しているため
 2. 費用対効果が伴わないため
 3. 形態の評価のみで十分と考えているため
 4. その他(例:免疫染色の設備がない) ()
- Q7 今後、免疫染色を実施する予定はありますか
 1. 導入予定
 2. 検討中
 3. 考えていない
 4. その他 ()

* 裏面に、設問Q13~Q23 もあります

【細胞診検査について】

* Q5で、2.行っている と答えた施設のみ、お答えください
 Q8 細胞診免疫染色の年間作製枚数を記入ください

* 年間枚数(可能なら): _____ 枚

- | | |
|--------------|----------------|
| 1. 1 ~ 10枚 | 5. 101 ~ 200枚 |
| 2. 11 ~ 20枚 | 6. 201 ~ 500枚 |
| 3. 21 ~ 50枚 | 7. 501 ~ 1000枚 |
| 4. 51 ~ 100枚 | 8. 1001枚以上 |
- Q9 免疫染色頻度の多い検体材料や可能であれば割合を、上位から記入ください
 検体材料 / 割合(%)
 1. (/)
 2. (/)
 3. (/)
 4. (/)
 5. (/)
 例: 体腔液(胸水・腹水)、尿、膀胱液、胆汁、
 乳腺、リンパ節、呼吸器、その他()

- Q10 免疫染色頻度の多い一次抗体項目および、可能であれば枚数を、上位から記入ください
 抗体名 ・ 枚数(概略)
 1. _____
 2. _____
 3. _____
 4. _____
 5. _____

- Q11 免疫染色標本の作製方法を、選択・記入ください
 1. 95%アルコール固定標本
 2. LBC標本(サイトリッチレド・ブルー・その他) ()
 3. セルブロック法(ゲルコマンソ・その他) ()
 4. 細胞転写法
 5. その他(例:2と3の併用など) ()

- Q12 Q11選択理由を選択・記入ください(併用の場合も)
 1. 細胞量(沈渣量)
 2. 検体材料別
 3. 病理医の希望
 4. その他 ()

理由(例:少量時はLBC、固形物は、セルブロックなど)

【細胞診検査について】

- Q13 用手法にて実施している施設の、メーカー名・測定原理・検出試薬を記入ください
 メーカー名(例:DAKO、ニチレイなど)

測定原理(例:ABC法、LSAB法、ポリマー法 など)

検出試薬(例:EnVision、シンプルステイン など)

- Q14 自動免疫機器にて実施している施設の、メーカー、機種、測定原理、検出試薬を記入ください
 (例:Roche・XTベンチマーク・LSAB法・iVIEWユニバーサル)
 1. メーカー名 _____
 機種 _____
 測定原理 _____
 検出試薬 _____

2. メーカー名 _____
 機種 _____
 測定原理 _____
 検出試薬 _____

3. メーカー名 _____
 機種 _____
 測定原理 _____
 検出試薬 _____

- Q15 組織標本の免疫染色プロトコールと同一方法で、細胞診の免疫染色も実施していますか。
 工夫・変更点があれば、選択・記入ください

1. 同一方法で実施している(固定方法は関係ない)
 2. 同一方法で実施している(セルブロックのため)
 3. 変更して実施している(固定方法により)
 4. わからない)
 5. その他()
 変更点・工夫点の記入欄
 (固定・抗原賦活・酵素処理・抗体希釈・DABなど)

* _____
 * _____
 * _____

- Q16 細胞診材料の免疫染色を検討する際も、最適な条件設定を選択するため、予備試験をしていますか
 1. 実施している)
 2. 実施していない)
 3. その他()

【細胞診検査について】

- Q17 その際、免疫染色の条件決定は誰が行いますか。
 選択・記入ください
 1. 病理医)
 2. 技師)
 3. 病理医と技師とのコンセンサス)
 4. その他()

- Q18 保険点数についてお答えください。
 細胞診免疫染色の加算は実施していますか？
 選択・記入ください
 1. 実施している } Q19へ
 2. 実施していない } Q20へ
 3. わからない)
 4. その他()

- Q19 Q18で、1.実施している と回答した施設は、どのような取組み・運用方法をしていますか？

- Q20 細胞診免疫染色の保険点数加算が、実施できれば、細胞診の免疫染色件数は増加すると考えますか？選択・記入ください
 1. 増加する)
 2. 増加しない)
 3. わからない)
 4. その他 ()

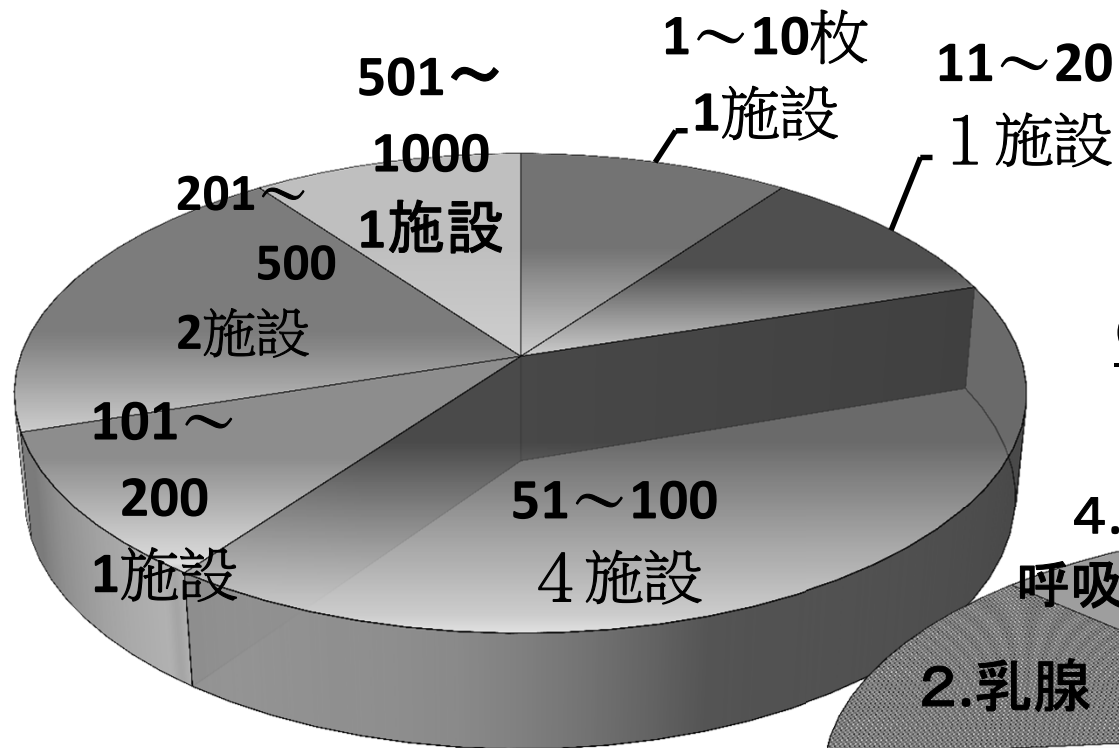
- Q21 細胞診の免疫染色項目追加は、誰の判断でしていますか？選択・記入ください
 1. 病理医)
 2. 技師)
 3. 病理医および、技師)
 4. その他 ()

- Q22 細胞診の免疫染色所見は、技師も記載していますか？
 選択・記入ください
 1. 技師は記載している)
 2. 技師は記載していない)
 3. その他 ()

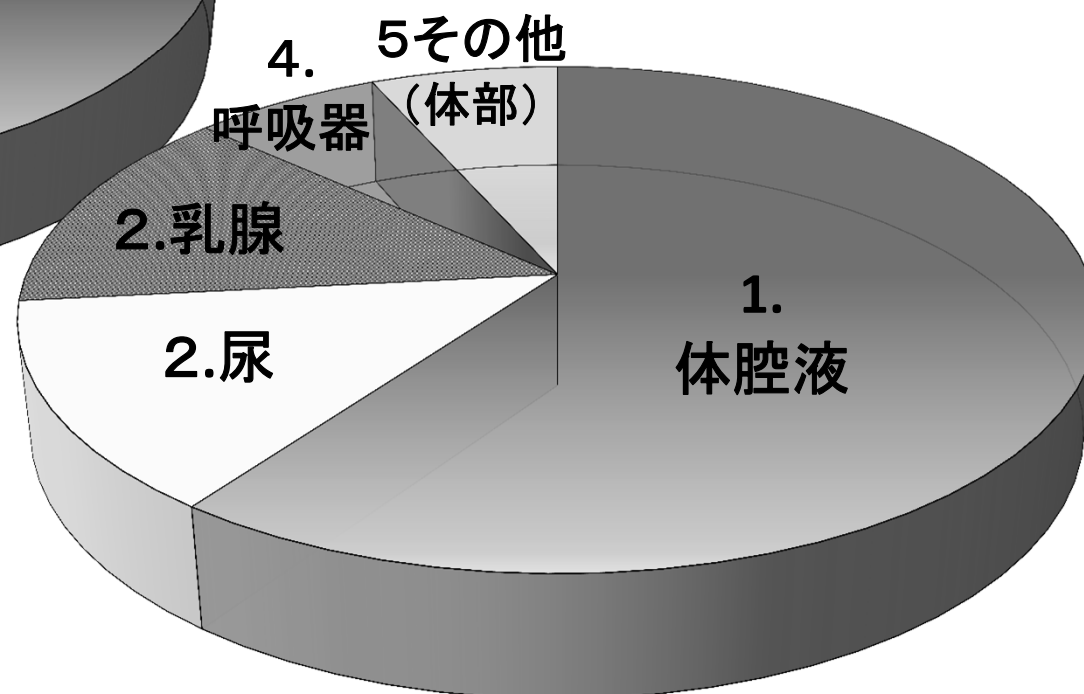
- Q23 最後に細胞診の免疫染色は、有用と考えますか？
 選択・記入ください
 1. 有用である)
 2. 有用でない)
 3. 信用していない)
 4. わからない)
 5. その他 ()

#2 頻度の高い、材料、抗体、標本作製法 Q.8—12

Q8、免疫染色枚数(年間)



Q9、染色頻度の多い 検体材料



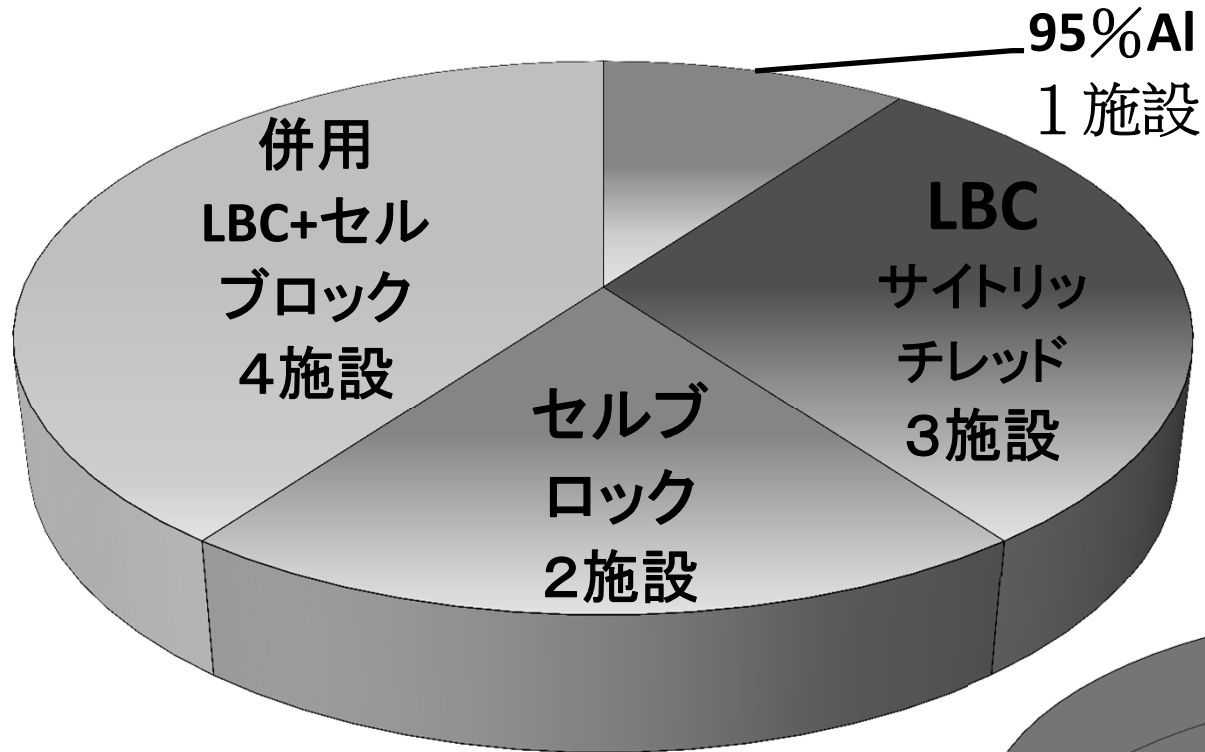
#2 頻度の高い、材料、抗体、標本作製法 Q.8-12

Q10、利用頻度の多い順番、1次抗体

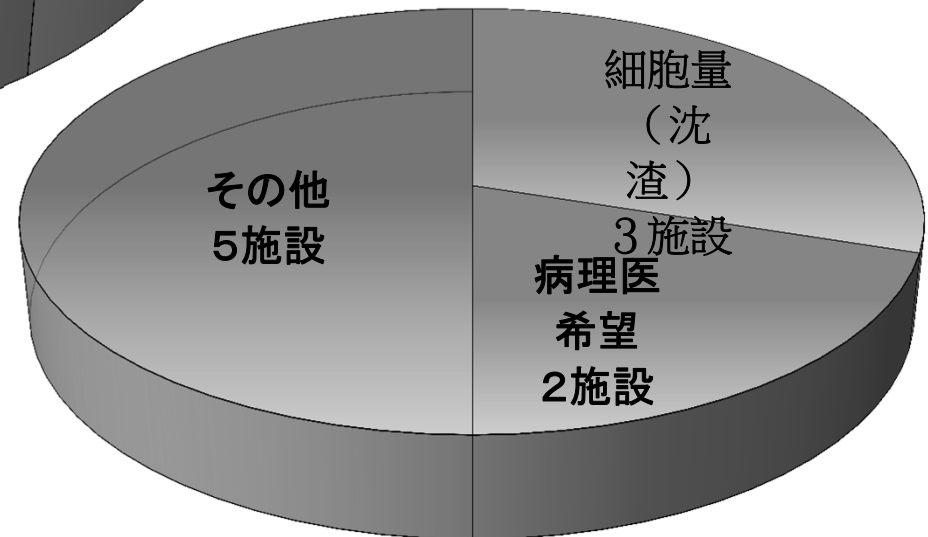
①	②	③	④	⑤	施設
1:Ki-67、	2:p53、	3:CK20、	4:Ber-EP4、	5:MOC-31	四国がん
1:calretinin、	2:p63、	3:CEA、	4:TTF-1、	5:NapsinA	県中
1:CK5/6 (51件)	2:p53(43枚)	3:CK20 (33枚)	4:ADC(29枚)	5:synaptophysin(28枚)	日赤
1:Ber-EP4 (70枚) 2:calretinin: (60枚) 3:CD68 (60枚)					住友別子
1:TTF-1(6枚)	1:calretinin(6枚)	1:CK7 (6枚)	4:CK20(5枚) 4:CEA (5枚)	4:D2-40 (5枚) 4:Ki-67(5枚)	市立 宇和島
1:calretinin、	2:CK7、	3:CK20、	4:TTF-1、	5:CKAE1/AE3	愛大
1:calretinin	2:CKAE1/AE3	3:TTF-1	4:NapsinA、	5:CK5/6 6:D2-40	済生会 今治
1:calretinin	2:CEA	3:EMA、	4:TTF-1、	5:D2-40	市民病院
1:CEA	2:calretinin、	3:vimentin、	4:CA125、	5:CD20	十全
1:p53	2:WT-1	3:vimentin、			医技大

#2 頻度の高い、材料、抗体、標本作製法 Q.8-12

Q11、標本作製方法



Q12、選択理由

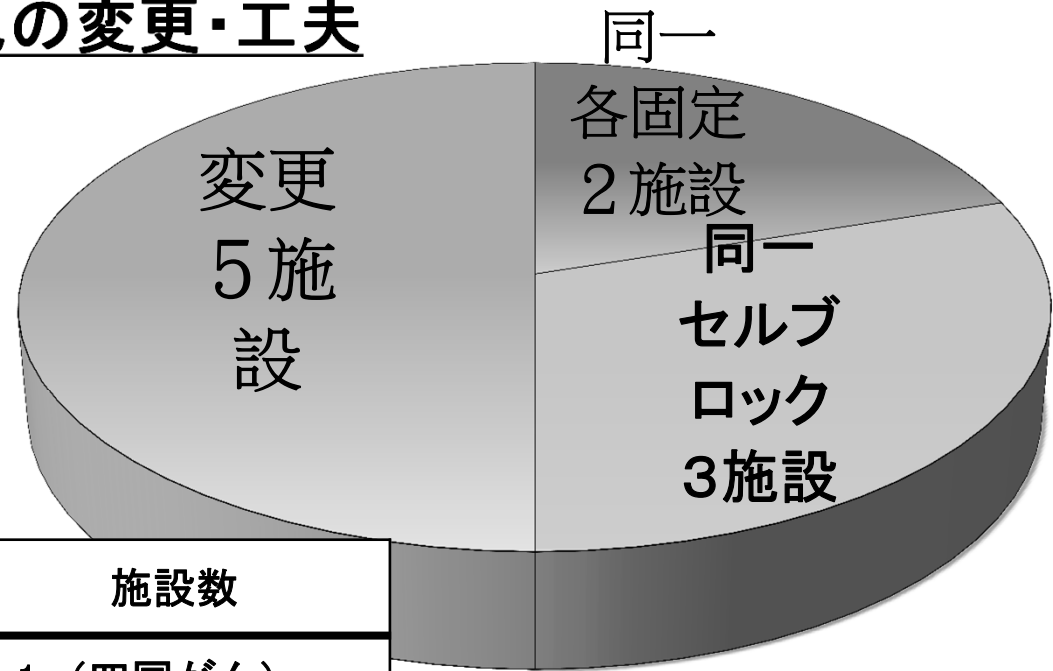


✓小括 2 #2 頻度の高い材料、抗体、標本作製法 Q.8-12

- 規模の大きい施設において、免疫染色件数が多い
- 細胞診免疫染色での、利用頻度の高い材料は、
体腔液で、腺癌と中皮細胞との鑑別目的
(※四国がん:小嶋さん発表)
- 施設における、検体材料に特化した抗体の取り組み
- 細胞転写法は、特別な設備を必要としない簡易な手法
(※住友別子:岡田さん発表)
- 検体保存は、LBC(サイトリッチレッド)とセルブロック、
およびその併用が主体 (※県中:兵頭さん発表)

#3 細胞診の免疫染色 工夫点 Q.13-15

Q15、細胞診 免疫染色の変更・工夫



免疫染色プロトコールの工夫	施設数
組織標本より抗体、2倍希釈	1 (四国がん)
LBCは1次抗体、3~5倍希釈	1 (県中)
1次抗体、2~5倍希釈	1 (十全)
抗原賦活時間を弱め:短縮	2 (四国がん・日赤)
抗原賦活が組織(100℃、60分)、 細胞診は、(100℃、30分)	1 (済生会今治)
(細胞剥離のため)、熱処理未実施	1 (住友別子)

✓小括3 #3 細胞診の 免疫染色 工夫点

Q.13-15

- 自動免疫染色機器による運用は 8施設で Rocheベンチマークが多く、用手法は 3施設
- プロトコール未変更の3施設は、セルブロック運用
- プロトコールの変更・工夫箇所は、
 - ① 1次抗体の希釈倍率 : 3施設
 - ② 抗原賦活時間の短縮化・未処理 : 3施設/1施設

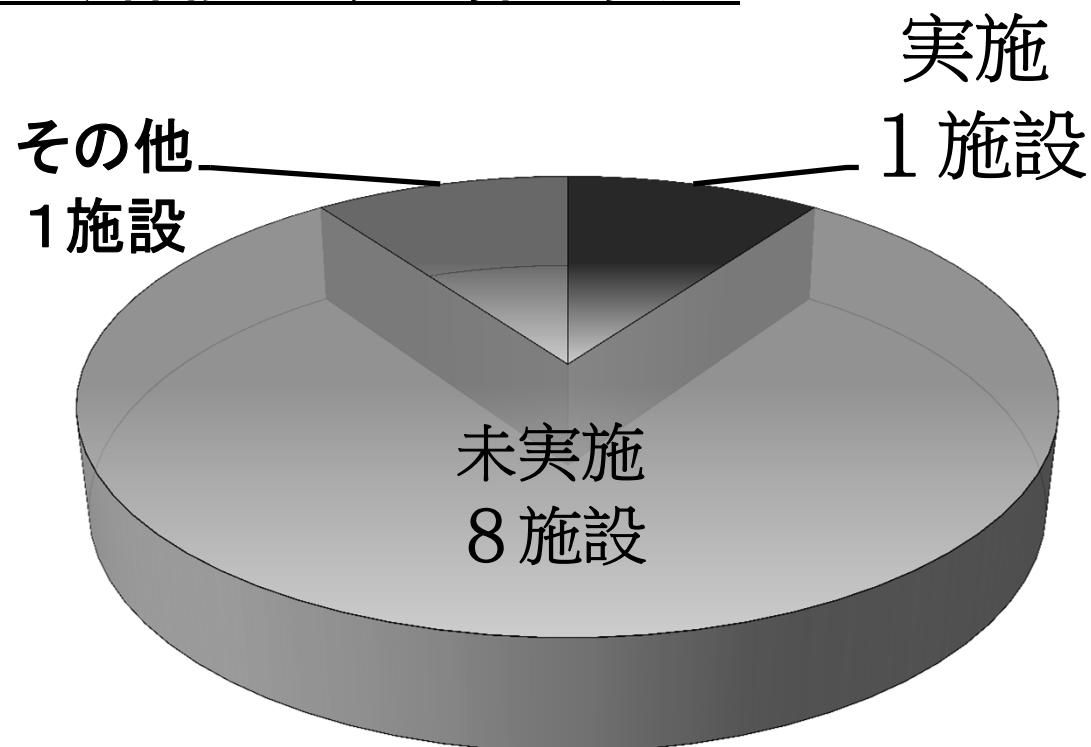
免疫染色において、細胞保存液の組成の違いにより、抗原性の保持や失活など影響をおよぼす

(※愛媛大学 今井さん 発表)

#4 細胞診免疫染色の運用方法、所見記載 Q.16-23

Q19、取り組み事例	施設数
✓ セルブロックは 組織検査として取扱い、 免染点数を加算	1(県中)
✓ LBCは未請求	

Q18、保険点数加算の実施



まとめ

- 細胞診における免疫染色は、液状検体など組織採取が困難な場合に有用
- 作製枚数に限りがあり、抗体の絞り込み・選択が大切
- 細胞保存液の種類により、染色性に影響
免疫染色プロトコール(抗原賦活、抗体希釈など)、
予備試験による確認が必要

今回のシンポジウムの内容を、
各施設の細胞診業務の参考にして頂ければ、・・・