

## 論文要約

### 論文題名

試験管法を用いたセルブロックにおける垂直断面（VSS）観察と水平断面（HCS）の腫瘍細胞分布と細胞量

### 掲載雑誌名

日本臨床細胞学会雑誌 第61巻 第5号 2022年 掲載予定

医学研究科病理系臨床病理診断学専攻 濱川 真治

### 論文要約

【背景・目的】セルブロック（CB）作製法は、直接容器内にて処理し回収を行う遠沈管法やゲル化剤を混和して固化する方法などが報告されているが、腫瘍細胞の一貫性のない細胞収量に細胞病理学者は不満を感じている。従来われわれは、容器内に細胞を遠心分離にて回収し、沈渣表層部水平断面（HCS: Horizontal cross section）にて包埋・薄切切片を得るCB作製法を考案<sup>2)</sup>し運用してきた。しかしHCSにて得られる標本では、初回薄切にて十分に腫瘍細胞（TC: Tumor cells）が検出されないなど、TC検出の安定性にやや欠けていた。またCBは分子病理学的検査への応用が拡がり、評価に十分なTC量とともにTC分布やTC含有率評価などが課題であった。今回われわれは、切断可能な試験管を用いたCB（以下、試験管法）の垂直断面（VSS: Vertical split section）観察とHCS観察において、1. TC分布評価、2. TC量を比較した。

【方法】胸水細胞診材料検体にて、明瞭なTCが観察された87例（男性51例、女性36例、平均年齢69.5歳[48-93歳]を対象とし、最終診断の内訳は、肺腺癌43例、肺神経内分泌癌7例、肺扁平上皮癌3例、卵巣癌7例、悪性リンパ腫8例、乳癌6例、胃癌3例、中皮腫2例、膀胱癌2例、結腸癌1例、悪性黒色腫1例、前立腺癌1例、食道癌1例、原発不明癌2例を用いた。

#### A) CB作製方法（試験管法）

- ①試験管法に準じて標本作製した。
- ②垂直方向に2分割した細胞沈渣塊の片方を、有核細胞層の最表層が薄切面になるよう90度回転させた面をHCSとし、VSSと並べて再包埋し検討に用いた。

#### B) TCの観察法

TC分布についてはVSSにて上層からA層、B層、C層の3層に分け、対物レンズ40倍にて任意の5視野に出現するTC数を計測し、各層に出現する5視野の合計TC100個以上をTC-H (Tumor Cell-High) 群、100個未満をTC-L (Tumor Cell-Low) 群の2群に分けて評価した。

### 1. VSSとHCSに出現するTC量の比較評価

VSSの3層とHCSに出現するTC量について、8段階に分類して評価した。またHCS・TC-L群においてVSS3層とのTC量について比較した。

### 2. VSSとHCSのTC分布評価方法

TCの出現層分布を7分類し、A-Cの全層出現以外の検体をTCの偏り分布検体(UDS-TC: Uneven distribution sample of TC)として評価した。

(倫理審査委員会承認番号: 公立昭和病院倫理委員会 REC-213 )

#### 【結果】 1. VSSとHCSに出現するTC量の比較

VSS3層とHCSに出現した合計TC量の検体数について、TC-HはA層56.3%、B層60.9%、C層56.3%、HCSは47検体(54.0%)であった。またTCの出現が認められなかった検体は、A層10.3%、B層1.1%、C層6.9%、HCSは13.8%であった。TCが1-99個はA層33.3%、B層37.9%、C層36.8%、HCS32.2%であり、合わせてTC-LはA層43.7%、B層39.1%、C層43.7%、HCSは46.0%であった。HCS・TC-Lの40検体について、対応するVSS3層との4群におけるTC細胞量の比較においてTC量に差が認められ、VSS・B層とHCSの1項目のみに4群の母比率に有意差が認められた。

#### 2. VSSとHCSのTC分布評価

VSS・TC-H群は65.5%、VSS・TC-L群が34.5%であった。VSS・TC-H群でVSS全層出現は48.3%であった。VSS・TC-H群でUDS-TC群は17.2%でみられ、その内訳はA・B層6.0%、B・C層6.0%、A層のみ2.3%、B層のみ1.1%、C層のみ1.1%に偏りがみられた。一方でHCS・TC-H群は54.0%、HCS・TC-L群は46.0%であった。HCS・TC-H群でUDS-TC群は6.9%であり、その内訳はA・B層4.6%、B・C層1.1%、A層のみ1.1%であった。またHCS・TC-L群でUDS-TC群は10.3%にみられ、その内訳はA・B層1.1%、B・C層が4.6%、A層のみ1.1%、B層のみ1.1%、C層のみ2.3%で偏りがみられた。

【考察】試験管法は比重分別遠沈法の原理を応用して有核細胞を効率よく層分離する方法であるが、包埋方法によってTC検出が不安定であったため、VSS層におけるTC量やTC分布について検討した。その結果VSS-A層やHCSにおいてTCが認められない検体がみられ、HCS・TC-L群において腫瘍細胞の偏りがみられた検体は、VSS-B層およびC層にその傾向が認められた。臨床検体では、組織球やリンパ球に混じてTCが出現し、細胞や集塊の大き

さ、TC量によってTC分布も症例によってさまざまであるためUDS-TCが生じたものと考えられ、HCS観察のTC検出の不安定さは細胞沈渣層におけるUDS-TCが一つの要因であると推察された。したがって遠心分離によって得られる有核細胞層を用いる試験管法の観察にはVSSが有用であり、細胞塊を垂直方向に2分することにより観察可能な面積も増加し、TC層をターゲットにしたダイセクションを行うことによるTC含有率向上は、分子病理学的検査の精度向上においても貢献するものと考えられた。

#### 【参考文献】

1. 福島範子, 朝隈蓉子. セルブロック (cell block) 法. 検と技1975 ; 3 : 49-54.
2. 濱川真治, 柏崎好美, 櫻井 勉, 小坂美絵, 近藤洋一, 倉品賢治・ほか. クライオバイアルを用いた簡易セルブロック作製法. 病理技術. 2006 ; 69 : 18-19.
3. 三浦弘守, 森谷卓也, 一迫玲, 望月静枝, 鍛冶光司, 高崎健司・ほか. 血液凝固系因子を用いたセルブロック作製 (フィブリンクロット法) に関する検討, 日臨細胞会誌. 2001 ; 40 : 476
4. 佐野順司, 吉本尚子, 溝口良順, 齊藤みち子. アルギン酸ナトリウムを用いたセルブロック法有用性についての検討. 日臨細胞会誌2005 ; 44 : 291-297.
5. 神谷 誠, 竹崎悌二, 富澤雄一, 岩佐和彦, 中里洋一. グルコマンナンを用いたセルブロック作製法. 病理と臨2006 ; 24 : 871-875.
6. 伊藤 仁, 小山田裕行, 加戸伸明, 芹澤昭彦, 宮嶋葉子. セルブロック作製法と特殊染色 (胸腹水) . 病理と臨2010 ; 28 : 1136-1140.
7. Krogerus L., Kholová I. Cell block in cytological diagnostics: Review of preparatory techniques. Acta Cytol 2018;62 : 237-243
8. Aruna Nambrirajan., Cell blocks in cytopathology: An update Cytopathology 2018 ; 29 : 505-524.
9. 細胞採取と処置. 山田 喬. 細胞病理診断学. 東京 : 文光堂 ; 1995, 22-23
10. 編集 一般社団法人日本病理学会. 第2部ホルマリン固定パラフィン包埋組織・細胞検体の適切な取り扱い. ゲノム研究用・診療用病理組織検体取り扱い規定. 羊土社;2019; 129-155

#### 【利益相反(COI)】

本論文内容に関連し、発表者らに開示すべき COI 関係にある企業などはありません。