

## 免疫組織化学—細胞診への応用の実際—

東海大学医学部附属病院 病理検査技術科

伊藤 仁、加戸伸明、宮嶋葉子

### 【はじめに】

婦人科の剥離細胞から始まった細胞診は、穿刺細胞診や経内視鏡的細胞診などの普及により、乳腺、甲状腺、リンパ節、唾液腺、肝臓、肺など、多岐にわたるようになった。また、急速に普及した免疫組織化学は、これらの様々な領域の細胞診へも積極的に応用され、現在では通常の特殊染色とほぼ同様に利用することが可能となっている。その応用範囲は、良性と悪性の鑑別、組織型の推定、腫瘍の細分類、病原体の検出など病理組織診と同様であるが、標本に制限のある細胞診では、現実的に利用される頻度はそれほど多くはない。当然のことながら、細胞診における免疫組織化学の必要性は状況により異なる。とくに生検ができない場合の必要性については言うまでもないであろう。

本稿では、当院で応用頻度が高い細胞診で有用な免疫組織化学について解説する。

### 【応用】

#### 1. 体腔液細胞診

##### 1) 悪性中皮腫の診断

現在、calretininが中皮腫において陽性率が高く、腺癌での陽性率が低い、最も有用な中皮マーカーである(図1)。細胞診標本では、calretininは細胞質および核に陽性を示すが、組織標本ではほとんどが核のみに陽性である。細胞診標本では、加熱による抗原賦活処理なしでも検出可能であるが、その場合、細胞質のみが陽性となる。他の中皮マーカーとしてはHBME-1、thrombomodulin、cytokeratin 5/6が知られている。また、近年、D2-40 (podoplanin)が中皮腫に特異的なマーカーとして利用されている(図2)。D2-40は中皮腫に対する特異性は高いが、卵巣の漿液性腺癌の約65%が陽性を示すとされるので、留意が必要である。いずれのマーカーを用いる場合にも、陰性マーカーとしてCEAを併用することが肝要である。また、肺腺癌との鑑別には、CEAの他、後述するthyroid transcription factor-1(TTF-1)を併用すると良い。

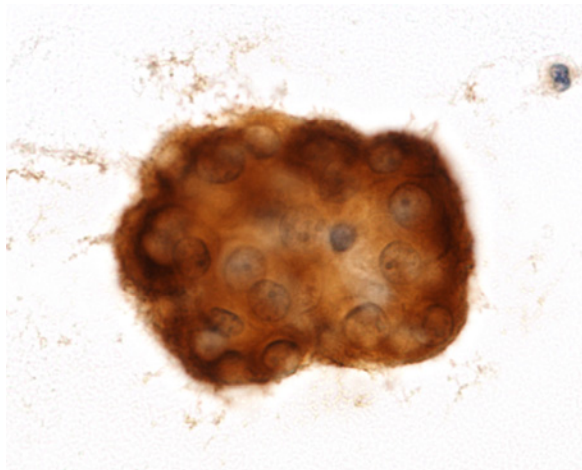


図1 Calretinin (Polyclonal) :  
悪性中皮腫 (胸水)  
核および細胞質に陽性を示す。

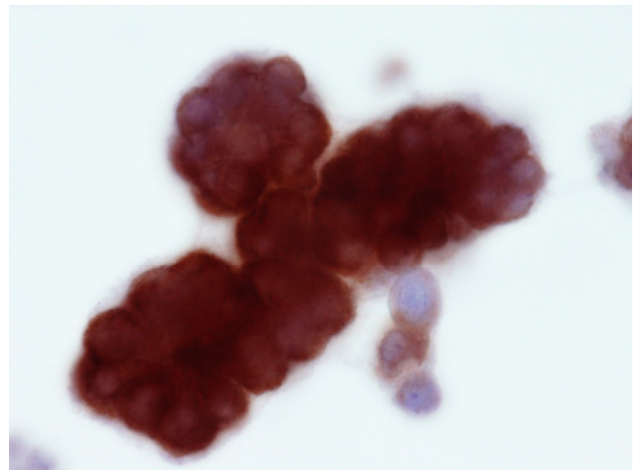


図2 Podoplanin (D2-40): 悪性中皮腫 (胸水)  
細胞質に陽性を示す。

## 2) 腺癌(肺腺癌, 卵巣漿液性腺癌, 大腸癌)の原発推定

体腔液中の腺癌細胞の原発推定において, TTF-1 を用いた肺腺癌細胞の特定はきわめて有用性が高い(図3)。TTF-1 は肺腺癌(および小細胞癌)に対する特異性が高く, 非常に優れたマーカーといえる。現在, 胸水における原発不明癌の検索で, TTF-1 の果たす役割はきわめて大きい。

腹水の場合の卵巣漿液性腺癌の特定には, p53, Wilm's tumor-1(WT-1)が利用される。腹水中に細胞異型の強い乳頭状腺癌が多数みられた場合, p53(図4), WT-1(図5)が陽性ならば卵巣漿液性腺癌の可能性が高い。共に核の染色性で判定する。特に WT-1 は細胞質に陽性を示す場合も多いので留意が必要である。また, WT-1 は中皮由来細胞にも陽性を示すため, 頻度は低いものの腹膜原発性悪性中皮腫との鑑別が必要であり, 上述の calretinin(-)や Ber-EP4(+ )などの確認が必要である。

Caudal-type homeobox(CDX)は, 腸型上皮の分化に関与する転写因子であり, CDX-2 蛋白は細胞核内に陽性となる。特に大腸癌では CDX-2 の陽性率が高いことが知られており, 大腸癌の特定に有用である。また, cytokeratin 20 も大腸癌に特異性の高いマーカーであり, 原発推定に有用である(図6)。

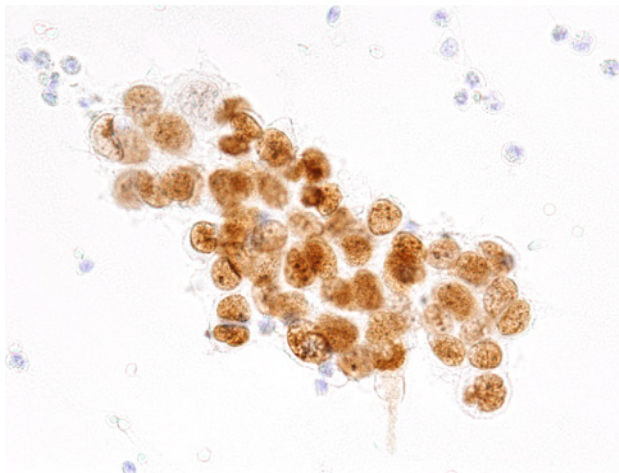


図3 TTF-1 (SPT24) : 肺腺癌 (胸水)  
核に陽性を示す。

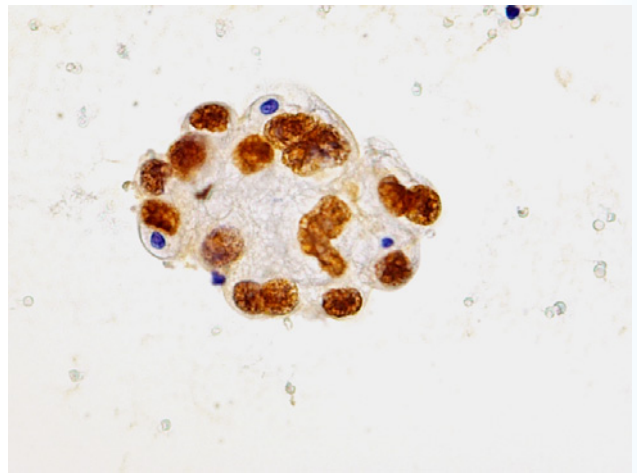


図4 p53 (DO-7) : 卵巣漿液性腺癌 (腹水)  
核に陽性を示す。

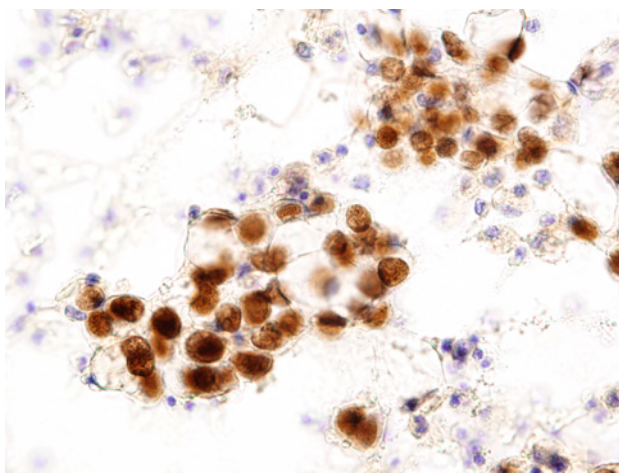


図5 WT-1 (6F-H2) : 卵巣漿液性腺癌 (腹水)  
核に陽性を示す。

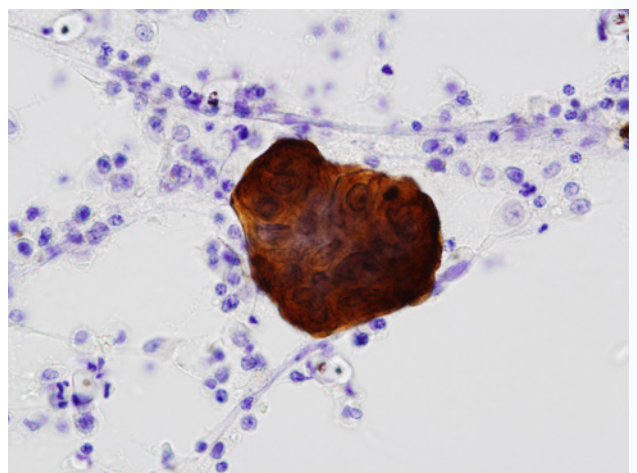


図6 Cytokeratin 20 (Ks20.8) : 大腸癌 (腹水)  
細胞質に陽性を示す。

## 2. 節外性リンパ腫

悪性リンパ腫はときに節外性に発生するが、その場合、しばしば免疫組織化学が施される。悪性リンパ腫の治療は化学療法が中心であり、不要な外科的切除を避ける意味でも穿刺細胞診で確定診断をすることは重要である。マーカーは通常 CD45（白血球共通抗原；LCA）が用いられる（図 7）。また、疑われる悪性リンパ腫の組織型によっても異なるが、臓器原発のリンパ腫では多くの場合 B 細胞性であり、CD20 が利用されることも多い。

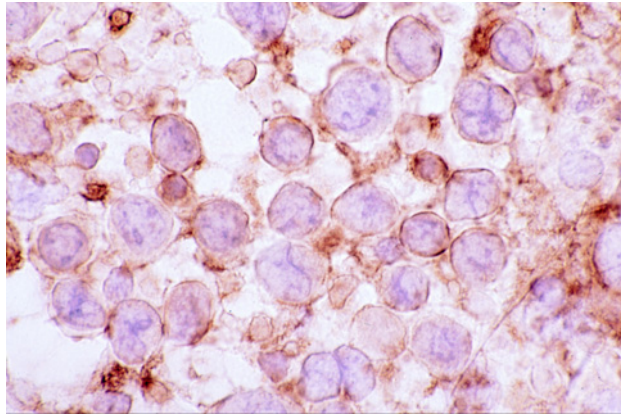


図 7 CD45 (2B11+PD7/26) : 悪性リンパ腫  
(乳腺穿刺細胞診)  
細胞膜に陽性を示す。

## 3. 癌のリンパ節転移

リンパ節における転移性癌の診断（リンパ腫との鑑別）にも応用される場合が多い。前述の節外性リンパ腫の診断と逆のケースであり、cytokeratin や CEA が利用される。cytokeratin を利用する場合には、CAM5.2 など正常のリンパ節に存在する細胞（濾胞樹状細胞）が陽性を示す抗体があるため（図 8）、用いる抗体の特異性には十分留意が必要である。

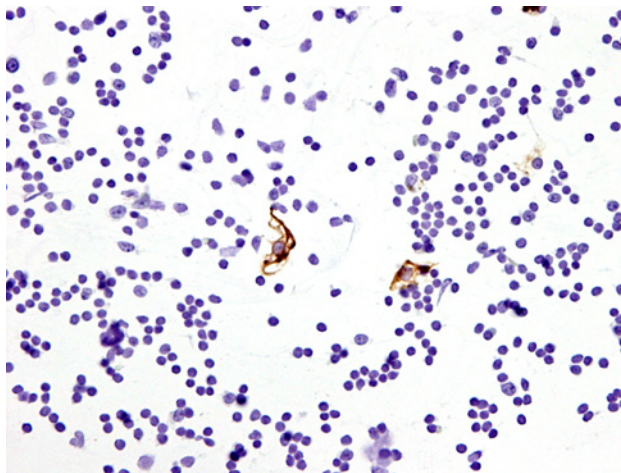


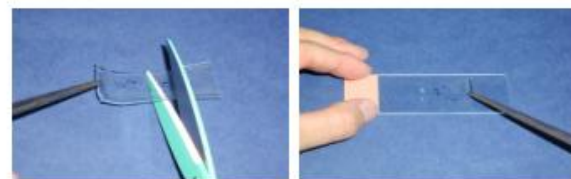
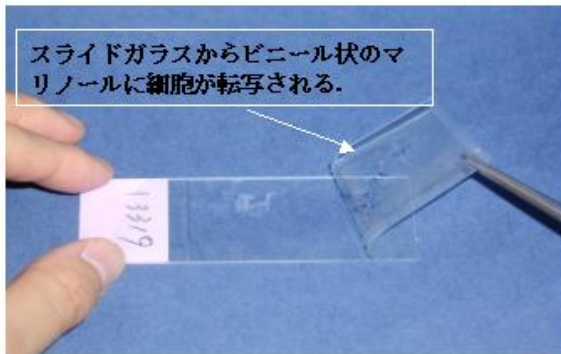
図 8 Cytokeratin (CAM5.2) : 正常リンパ組織  
(リンパ節捺印)  
濾胞樹状細胞の細胞質に陽性を示す。

### 【まとめ】

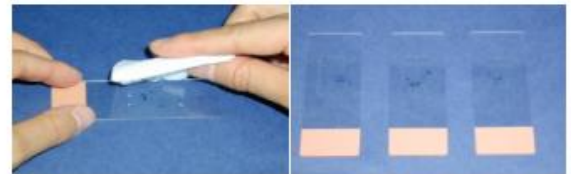
現実的に実際の細胞診で応用頻度の高い利用法について概説したが、癌の原発推定に用いられるマーカーは、言うまでもなく体腔液以外の他の領域においても応用可能である。しかし、細胞診に限らず、免疫組織化学を鑑別診断へ応用する場合、鑑別を必要とする病変とその免疫組織化学的特性を把握することが重要である。特に細胞診へ応用する場合は、標本に限りがあるため、マーカーの選択、絞込みが重要である。必要に応じて、細胞転写（分割）法（図9）を応用することにより、複数のマーカーが検索可能となる。また、この方法はカバーガラスで覆われない部分の細胞に応用することも可能である（図10）。

## 細胞（分割）転写法 Cell Transfer Method

1. マリノールをキシレンで2倍に希釈，混和。
2. 2倍希釈マリノールを1mlスライドガラスに塗布。
3. 70～80℃のパラフィン切片伸展器で20～30分間マリノールを硬化。
4. 温水（50～60℃）に15分間浸し，マリノールを軟化。
5. 軟化したマリノールをピンセットなどで剥がす。
6. はさみで分割あるいはマーキング部分を切り取る。
7. 切り取った封入剤を水（湯）に浸し，新しいシランコートスライドガラスに貼り付ける。



8. 余分な水分をキムワイプで押しつけて吸い取る。



8. 75℃のパラフィン切片伸展器で30分程乾燥。
9. キシレンでマリノールを除去し，使用。

図9 細胞転写（分割）法

1枚の標本から数枚の標本が作製可能である。

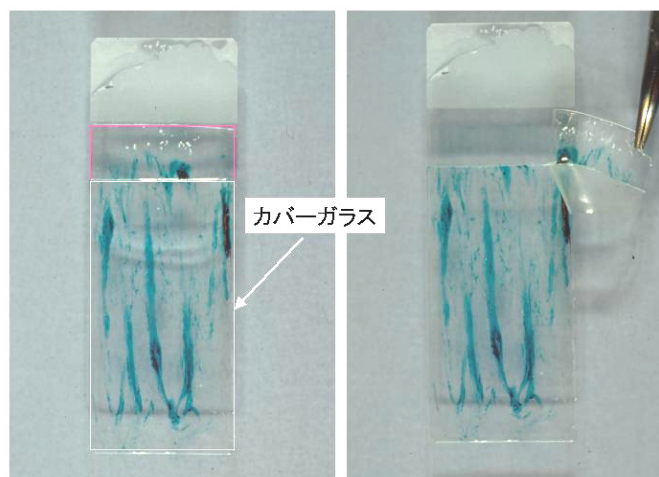


図10 細胞転写法

カバーガラスで覆われない部分のみの転写にも利用できる。

### 文献

- 1) Chu, A. Y., Litzky, L. A., Pasha, T.L. et al.: Utility of D2-40, a novel mesothelial marker, in the diagnosis of malignant mesothelioma. Mod Pathol. 2005, 18 : 105- 110.