

Liquid Based Cytology と免疫組織細胞化学

日本大学医学部病理学講座

根本 則道

Liquid Based Cytology (LBC) 法とは？

Liquid Based Cytology (LBC: 液状化細胞診) とは、細胞診における細胞検体処理法の一つである。本法では採取した細胞診検体を分散液（保存液）中で攪拌・分散した後、細胞を回収しスライドガラス上へ薄く転写・塗沫し、固定した後、染色を行い細胞診標本を作製する方法である。本法は従来婦人科領域の細胞診検体処理法として開発されたものであり、細胞がスライドガラス上に薄く塗沫されることから **thin layer** 法あるいは **monolayer** 法とも呼ばれていたものである。LBC に関しては米国細胞病理学会による「子宮頸部細胞診実施ガイドライン」において、その取扱いが明記されたことで婦人科細胞診における LBC の位置づけがより明確になった経緯がある。

細胞処理法としての LBC 法の利点

従来、婦人科細胞診においては、細胞塗沫過程における乾燥による人工産物の発生が細胞像を評価する上で大きな障害となることが指摘されており、また、綿棒などによる細胞採取では、細胞成分の有効利用ができない（細胞成分のロス）ことが問題となっていた。この点に関して、LBC 法は採取細胞を液状化することで乾燥を防ぐと共に、特殊な集細胞／転写・塗沫法（現在 FDA はフィルター転写法ならびに比重勾配法を認可している）によって効率良く細胞を塗沫することが可能となった。さらに、保存液中で分散することで塗沫細胞の重なりを最小限にすることが可能となり、観察評価に適することが示されている（図 1）。

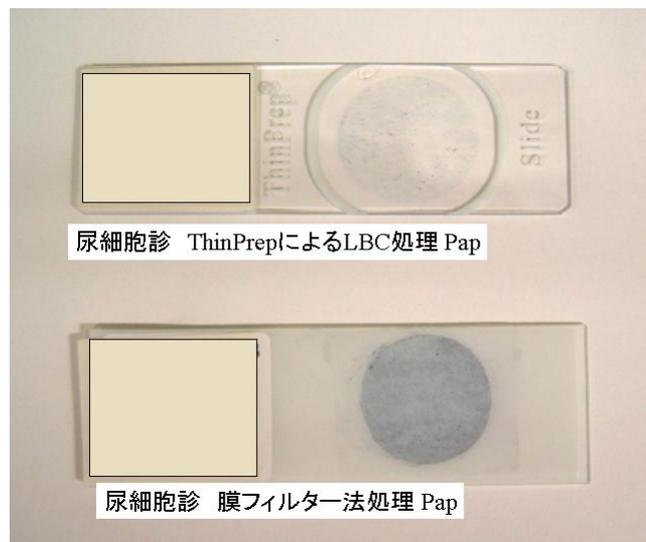


図 1 尿細胞診検体に関する処理法の比較

尿検体における細胞塗沫標本と LBC 法による細胞診塗沫標本の比較

膜フィルター法を用いて集細胞された尿検体と LBC 法によるものとは、細胞像の違いを生じるか否かについて検討した。両者共にパパニコロウ染色の結果である。膜フィルター法による細胞像では塗沫細胞の集塊は比較的大きく、細胞の重積性が目立った。一方、LBC 法では塗沫細胞は弧在性のものが多く、細胞集塊は比較的小型であるが、染色性に関しては両者に決定的な違いは見いだせなかった。また、乾燥、細胞の収縮ならびに核濃縮などの細胞評価に支障をきたすような人工産物は全く観察されなかった（図 2）。

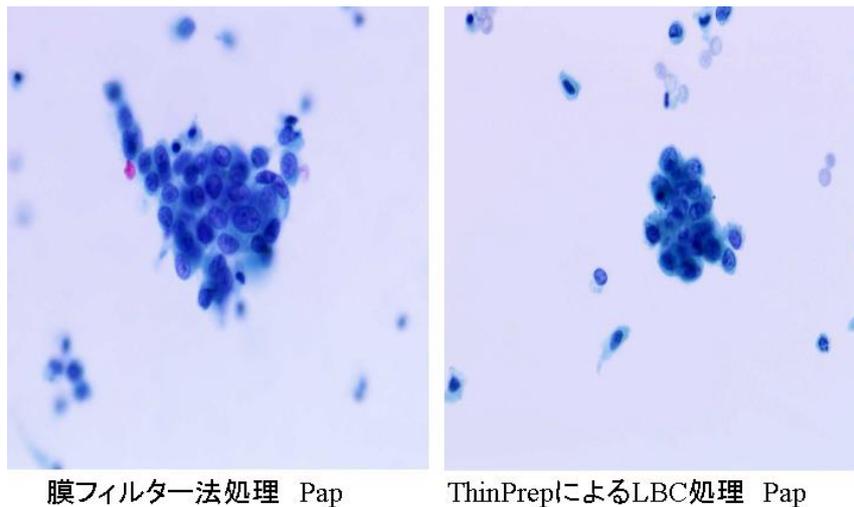


図2 尿細胞診検体に関する処理法の比較

非婦人科細胞診検体における LBC 法の応用

非婦人科細胞診検体における LBC 法の応用については限られた報告しかない。また、その有用性については未だ確立されていない。しかし、予備的な検討ではあるが、塗沫細胞像に関しては従来の方法に比較して優るとも劣らない結果であった。現在非婦人科検体として LBC 法の応用が可能なものとしては以下のものが挙げられる：1) 穿刺吸引細胞診、2) 内視鏡的擦過細胞診、3) 術中迅速診断時の腫瘍断面の擦過、4) 気管支／肺胞洗浄液、5) 体腔液（胸水、腹水など）、6) 尿、7) 胆汁、すい液などである。

非婦人科 LBC 処理検体における免疫細胞化学

LBC 検体（乳癌）を対象として免疫細胞化学の適否を検討した。LBC 法で処理された細胞塗沫スライドは95%エタノールで浸漬固定した後、型のごとく免疫染色を施行した（染色のフローチャートを図3に示す）。乳癌検体に関して LBC 処理塗沫細胞像は、組織像を良く反映する細胞集塊として観察された（図4）。これら塗沫細胞のホルモンレセプターの発現態度は組織のそれと同一であった（図5）。従って、免疫細胞化学に関して LBC 処理は、細胞像ならびに抗原性について何ら悪影響を及ぼさないことが示された。さらに、染色強度についてもきわめて良好な結果をもたらした。抗原性の保持に関しては、LBC 保存液中に長期保存しても問題ないことが示された。一方、形態の保持に関しては保存液中の長期保存は核の濃縮と収縮をもたらし、あまり長期の保存は形態観察には不適と思われた。

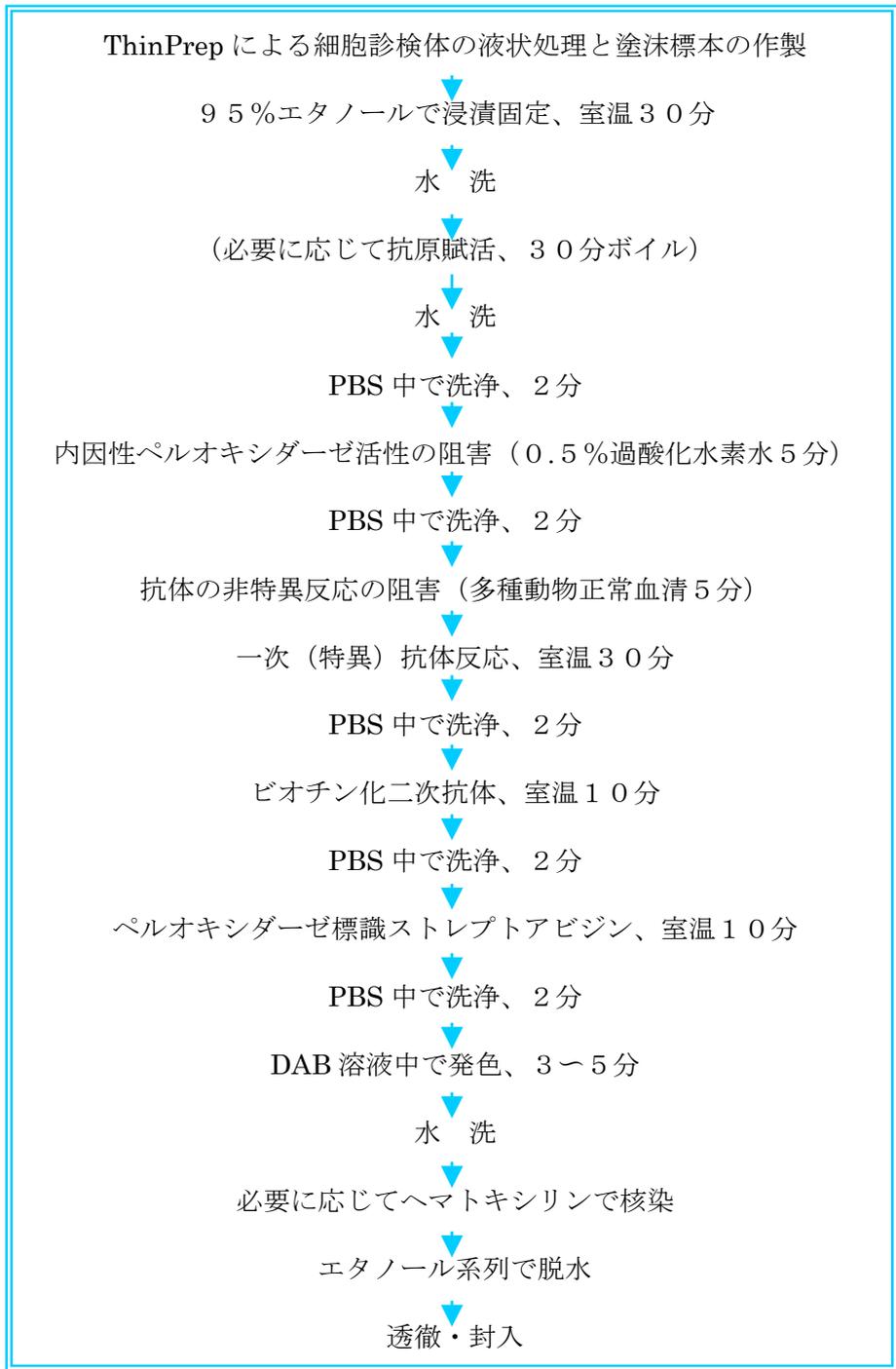


図3 液状細胞診検体の免疫染色フローチャート

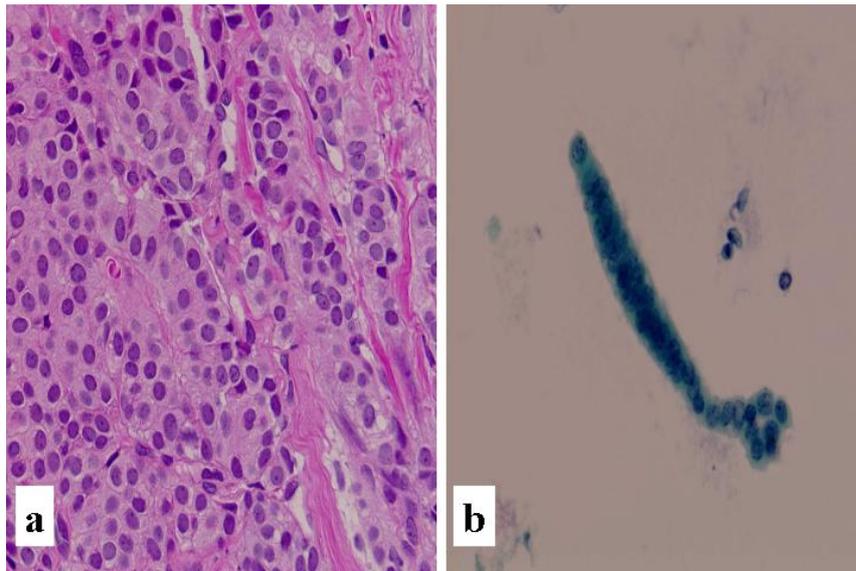


図4 乳癌組織像 (a)と LBC 塗沫細胞像 (b)

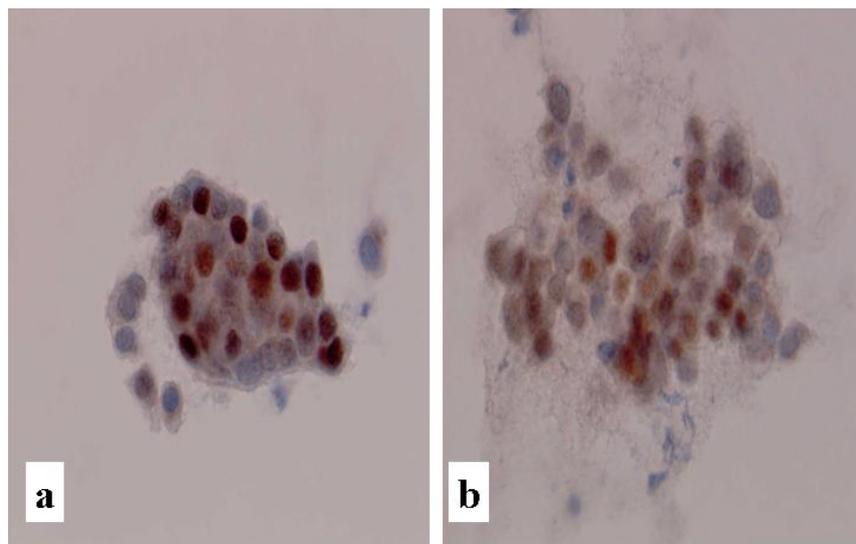


図5 LBC 処理塗沫細胞におけるエストロゲン受容体 (a)
ならびにプロゲステロン受容体 (b)の発現

LBC の長所と短所

我々の検討した結果において、LBC の長所としては以下の点が挙げられる。

- 1) 採取された細胞の有効利用が可能である (細胞の loss が少ない)。
- 2) 塗沫背景がきれいで、薄い細胞塗沫が可能である (細胞重積が少ない)。
- 3) 採取細胞量にもよるが、多数の塗沫スライドの作製が可能である。
- 4) 塗沫領域が限定されるため鏡検効率がよい。
- 5) 保存液中で細胞の保存が可能である。
- 6) 免疫細胞化学的検索ならびに遺伝子検索が可能である。
- 7) 細胞評価に関して自動化が可能である。

一方、短所としては以下の点が挙げられる。

- 1) 通常の細胞診検体の処理に比較してコストが高い。
- 2) 塗沫背景がきれいになることで、壊死性背景を読み取ることが困難である。
- 3) 液状化処理から塗沫、染色にいたる過程に時間がかかる。
- 4) LBC のための特別な機器の設置が必要であり、高価である。

まとめ

LBC (Liquid Based Cytology) は良好な細胞形態の保持に加え、保存液中での細胞の長期保存が可能である。また、必要に応じて免疫細胞化学や遺伝子解析が可能であり、今後、非婦人科領域における LBC への期待が増すと共にその需要拡大が予測される。