



細胞転写法による免疫染色の病理診断への有用性

1) 洛和会音羽病院 臨床検査部 2) 神戸大学大学院 保健学研究科 病態解析学領域
3) 元 神戸大学医学部附属病院 病理部 4) 洛和会音羽病院 病理診断科

森藤 哲史^{1),2)} 二反田 隆夫³⁾ 安井 寛⁴⁾ 大崎 博之²⁾

はじめに

現在の病理診断において免疫染色は欠かすことのできない技術であり、その応用範囲は多岐にわたる。細胞診領域では、胸水や腹水からセルブロック標本を作製して免疫染色を行う機会が増えており、腫瘍の組織型や原発巣の推定に寄与している。特に、組織検体の採取が困難な場合には、細胞診検体で可能な限りの検索を行うことで、臨床に有益な情報を提供することができる。しかし、セルブロック標本の作製にはある程度の細胞量が必要となるため、細胞が少量しか得られない場合は標本作製が困難となる。細胞診検体で免疫染色を実施する際には、セルブロック法の他に、液状化細胞診（LBC）や細胞転写法を用いることも多い¹⁾。本稿では、筆者らが考案した迅速かつ簡便な細胞転写法および細胞転写法による免疫染色を紹介する。

ナイロンメッシュを支持体に用いた細胞転写法

細胞転写法は、1枚のスライドガラスの細胞塗抹面を分割して他のスライドガラスに転写することで、複数のマーカーを用いた免疫染色を可能とする技術である。また、細胞転写法では、パパニコロウ染色で細胞形態を確認した後に免疫染色が実施できるため、同一細胞における細胞形態と免疫染色結果の対比が可能という利点も有する。従来の細胞転写法²⁾では処理完了までに一晚以上を要することから、迅速性に優れる種々の改良法が報告されている^{3),4)}。しかし、これら改良法では細胞剥離時に封入剤が変形や破損することがあった。そこで筆者らは、封入剤の変形や破損を防止するために、封入剤の支持体としてナイロンメッシュを使用する細胞転写法を考案した⁵⁾。筆者らが考案した細胞転写法は、特別な器材や試薬を必要とせず、迅速（約30分）かつ確実に細胞転写を行うことが可能である。

使用器材

- ・支持体（ナイロンメッシュ）：サンプルパック（栄研化学）
- ・封入剤：マリノール 550cps（武藤化学）
※エンテランニュー 自動封入機用（メルク）でも代用可能
- ・コーティングガラス
- ・ホットプレート（80℃）



細胞転写手順

1. カバーガラスを除去後、塗抹面をナイロンメッシュで覆う(図1-a).
※ナイロンメッシュをスライドガラスの大きさに合わせて切っておく.
2. キシレン: 封入剤=1:2に希釈した封入剤0.5mLを滴下する(図1-b).
※標本全体を均一に覆うように希釈した封入剤を滴下する.
※気泡が入らないように注意する.
3. ホットプレート(80℃)で5分間加熱(硬化)する(図1-c).
※必要に応じてマーキングなどを行う.
4. お湯(60℃)で5分間軟化後(図1-d), ナイロンメッシュを剥離する(図1-e, f).
※スライドガラスをお湯に浸漬することで封入剤を軟化させる. 剥離を容易にするため恒温槽や孵卵器などを用いて十分に加熱することが重要である.
※剥離後に目的の細胞を顕微鏡下で確認することもできる.
5. ハサミを用いて目的部分をカットする(図1-g).
6. ホットプレート(80℃)で5分間加熱(貼付)後(図1-h), キシレンに1~5分間浸漬し, 封入剤とナイロンメッシュを除去する(図1-i).
※キシレン中に浸漬することでナイロンメッシュは自然に剥離する.

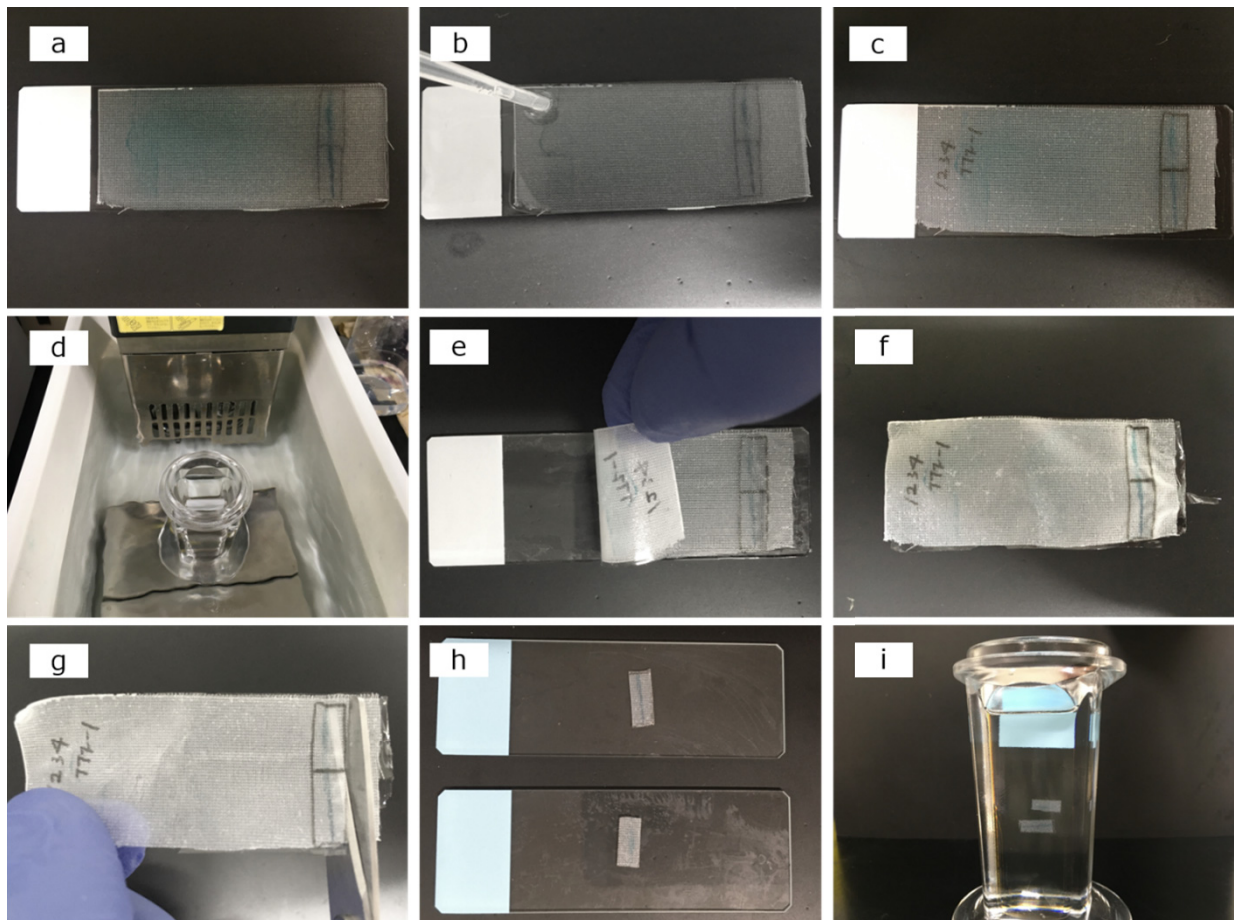


図1: ナイロンメッシュを支持体に用いた細胞転写法手順

本法の特長

- ・迅速性に優れる（約30分）
- ・手技が簡便
- ・特別な器材・試薬が不要
- ・ナイロンメッシュに検体番号やマーカ名などを直接記入できる
- ・ナイロンメッシュの存在により細胞転写過程で封入剤が変形しない
- ・封入剤の剥離時にカミソリ等を使用しないため安全性に優れる
- ・組織切片の転写にも応用可能

筆者らの細胞転写法による免疫染色

本法は、従来の細胞転写法と比較して迅速・確実であり、特別な処理を必要としないため、アルコール固定の細胞診検体と同様の手順で免疫染色を実施できる。

図2は本法を用いて免疫染色を行った胸水の肺腺癌症例である。腫瘍細胞はTTF-1(+), Napsin A(+)と肺腺癌として矛盾しない結果であり、いずれのマーカも良好に染色されている。また、本法は細胞転写から免疫染色までの工程を当日中に行うことができるため、迅速な結果報告が可能であった。

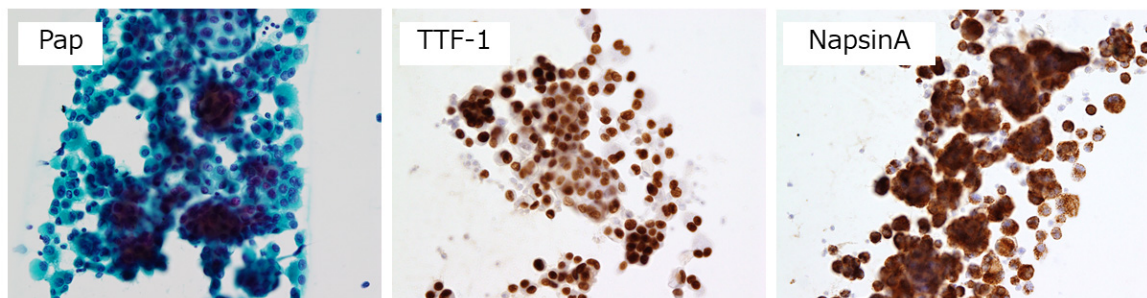


図2：肺癌（腺癌）による癌性胸膜炎症例（胸水）

図3は、臨床的に腹膜癌が疑われた患者の腹水中に少数の異型細胞がみられた症例である。細胞異型も軽度であったため、細胞像のみでは良悪性の鑑別が困難であった。細胞転写法によるEpCAM (MOC31) の免疫染色を施行した結果、異型細胞はEpCAM (+) を呈したため、腹膜癌由来のものと推定した。本症例のように細胞形態と免疫染色を対比することは、診断精度の向上のみならず、細胞形態の理解や教育にも有意義と考える。

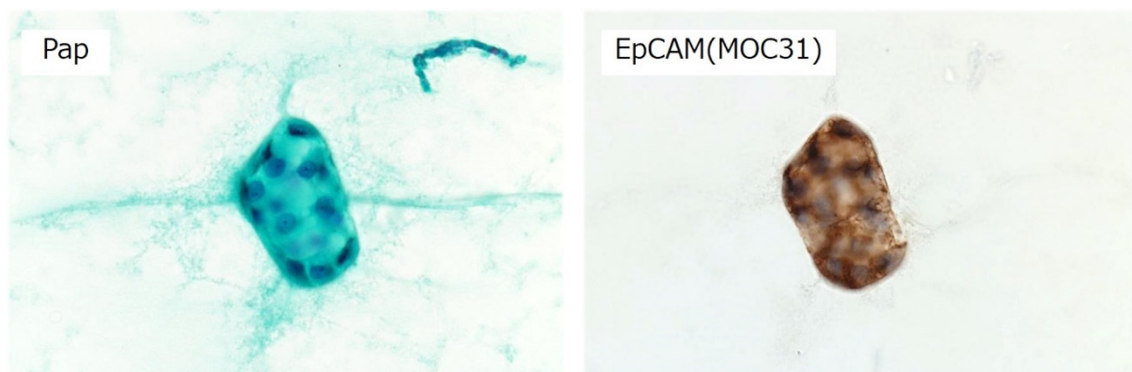


図3：腹膜癌症例（腹水）



図4は肺腺癌の脳転移症例で，脳脊髄検体に出現していた少数の異型細胞に対して細胞転写法による免疫染色を施行した．その結果，異型細胞は，TTF-1(+)，CK7(+)，CK20(-)であり，肺原発腺癌の転移と判定した．細胞転写法は，数個の異型細胞からでも原発巣の推定が可能となる．

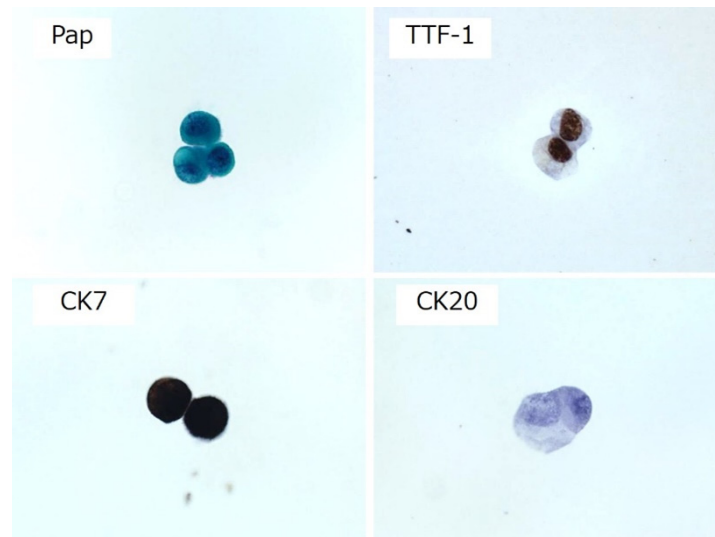


図4：肺癌（腺癌）の脳転移症例（脳脊髄液）

まとめ

提出された細胞診検体で可能な限りの検索を行い，診療に有用な情報を臨床に提供することは，われわれ臨床検査技師の務めと考える．筆者らが考案した細胞転写法が細胞診の診断精度向上の一助となれば幸甚である．

文献

- 1) 一般社団法人 日本臨床衛生検査技師会監修：細胞検査技術教本，20-30，丸善出版，2018.
- 2) Sherman ME, et al: Immunostaining of small cytologic specimens. Facilitation with cell transfer. *Acta Cytol.* 1994;38(1):18-22.
- 3) 伊藤仁，他：迅速細胞転写法の検討，*日本臨床細胞学会誌* 2002：41(4)：302-303.
- 4) 石田克成，他：マイクロウェーブを用いた超迅速細胞転写法—各種染色・FISH法への応用と影響—，*日本臨床細胞学会誌* 2005：44(6)：353-359.
- 5) Morito S, et al: Rapid Cell Transfer by Means of Nylon Mesh to Improve Cellular Diagnosis: The Role of Immunocytochemistry. *Acta Cytol.* 2021：65(5)：424-429.