



液状化検体細胞診 ThinPrep™法における 婦人科細胞診の品質管理

○塚本 龍子¹⁾，京竹 愛子¹⁾，今川奈央子¹⁾，吉田 美帆¹⁾，
古澤 哲嗣¹⁾，猪原 千愛¹⁾，尾崎 達司¹⁾，須广 佑介¹⁾，
二反田隆夫¹⁾，伊藤 智雄¹⁾
神戸大学医学部附属病院 病理部¹⁾

第61回日本臨床細胞学会総会（春期大会） COI開示

●筆頭演者名：塚本龍子

今回の演題に関して開示すべきCOIはございません

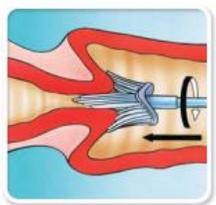


標本の質の管理

検体採取法，標本作製法，染色法の
原理・手順を理解することが重要

ThinPrep® Pap Testとは 婦人科の液状検体の採取と標本作製方法

液状検体の採取 - ブルーム型ブラシによる採取法



- 採取する

子宮頸部から十分に細胞を採取する子宮頸管内にブラシの中央部を挿入します。周りの短い脚部分が、子宮腔部に接するところまで挿入してください。ブラシをそっと押し付け、右に5回転させてください。採取後は、巢部に PreservCyt®バイアルに入れてください。



- すすぐ

ブラシをPreservCyt®液バイアルに入れて、容器の底で毛先が広がるように素早く10回押し付けて下さい。バイアル内で最後に強くかき回し、ブラシを廃棄します。



- 蓋をしめる

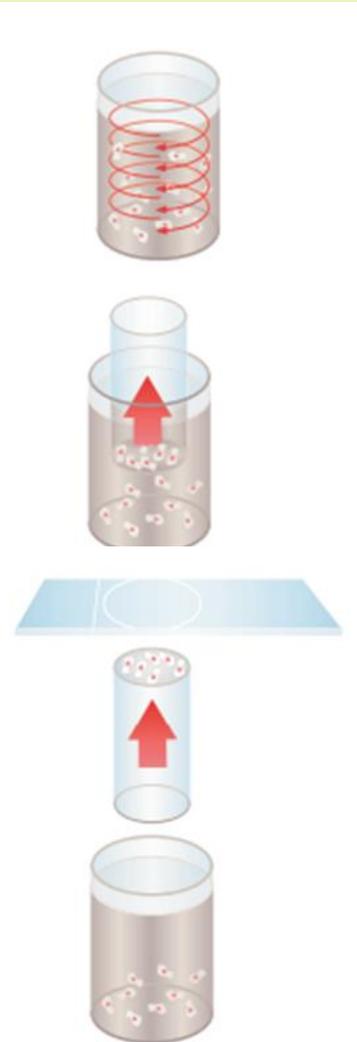
蓋の黒いラインバイアルの黒いラインを超えるように、バイアルの二をしっかりと締めます。



PreservCyt®液バイアル
と
ブルーム型ブラシ

ThinPrep® Pap Testとは 婦人科の液状検体の採取と標本作製方法

標本作製法：
転写法の原理



1. 分散

バイアルを回転させ検体の小片を分離し、細胞を十分に攪拌する

2. 細胞の採取

フィルタ内で適度な真空が形成され、膜の外標本に細胞が採取される

3. 細胞の転写

フィルタが反転し、スライドにゆっくり押し付けられ、自然の吸着力とわずかな空気圧によって細胞が付着する。

検体の適否の評価

保存状態がよくなおかつ鮮明にみえる

扁平上皮細胞または扁平上皮化生細胞数の最低基準

5000個

- * 異常細胞を認める場合、適正。
- * 基準に満たない場合でも以下の検体の場合、適正。2000個満たない場合は不適正とする。
 - 化学療法や放射線治療を受けた患者
 - 萎縮性変化を伴う閉経後の女性
 - 子宮摘出した患者

表 液状化検体 (ThinPrep™など) の細胞数を推定するためのガイドライン

ThinPrep™ など	標本の直径 (mm)	標本の面積 (mm ²)	10×対物レンズ		40×対物レンズ	
			レンズ使用時の 総視野数	1視野あたりの 細胞数 (総5000個相当)	レンズ使用時の 総視野数	1視野あたりの 細胞数 (総5000個相当)
FN20の 接眼レンズ	20	312.4	100	50	1600	3.1
F22の 接眼レンズ			82.6	60.5	1322	3.8

ベセスダシステム2014アトラス 表1.1 液状化検体の細胞数を推定するためのガイドラインより一部抜粋変更

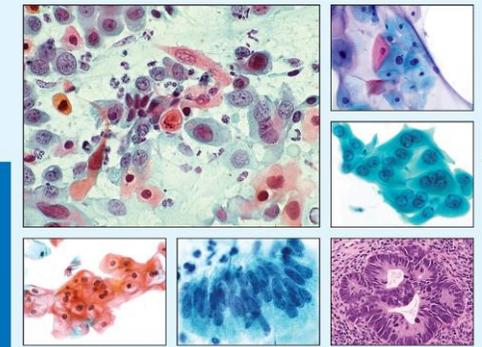
The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology
Definitions, Criteria, and Explanatory Notes (Third Edition)

ベセスダシステム 2014 アトラス

子宮頸部細胞診報告様式

Ritu Nayar · David C. Wilbur 編

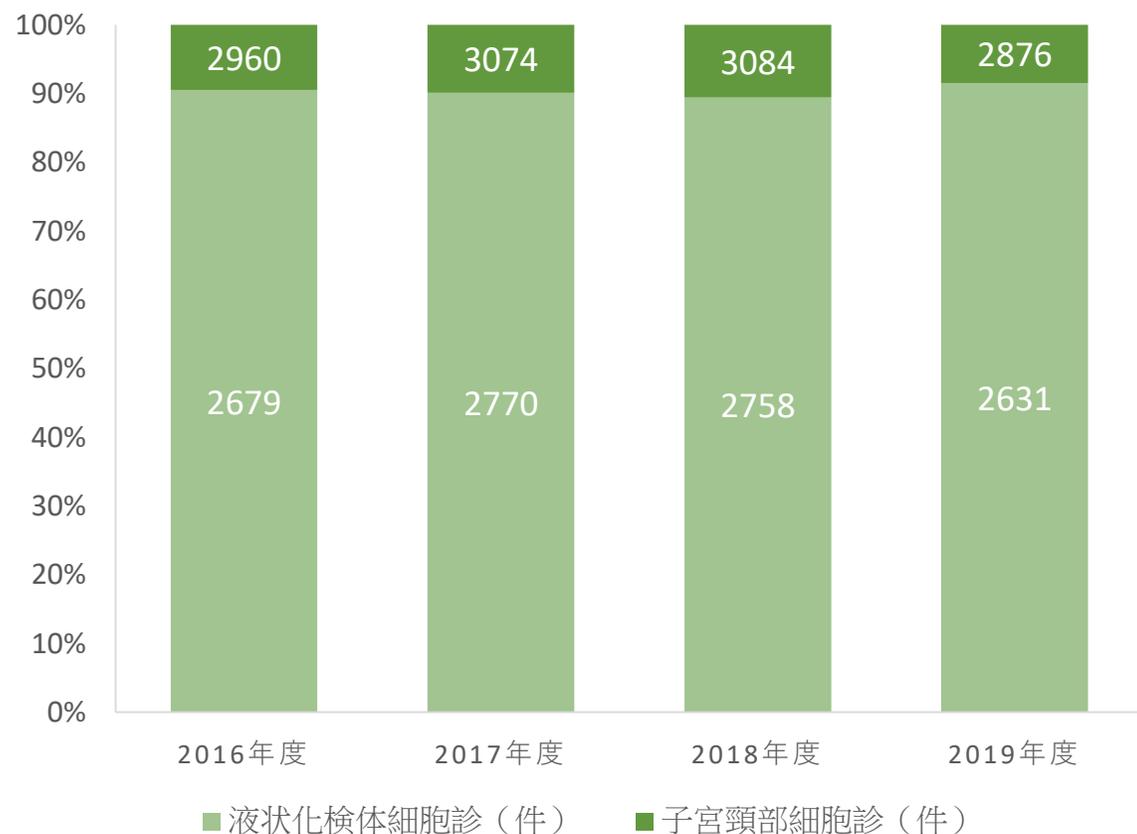
平井康夫 監訳



丸善出版



当院の子宮頸部細胞診における液状化検体細胞診



画像 HOLOGICホームページより引用

2015年8月1日よりThinPrep®5000による液状化検体細胞診を導入。現在も基本（約90%）、従来法と併用して子宮頸部細胞診を実施している。

子宮頸部細胞診成績 (2016/4/1~2020/3/31)

Bethesdaカテゴリー	総合判断結果件数	従来法とLBCで結果（細胞所見） が異なった件数 （従来法による結果・LBCによる結果）
NILM	9295	—
ASC-US	275	7 (2・5)
ASC-H	122	3 (2・1)
LSIL	376	11 (6・5)
HSIL	392	14 (12・2)
SCC	81	4 (3・1)
AGC	34	0
Adenocarcinoma	74	1 (1・0)
Other malig.	6	0
Unsatisfactory	26	—

従来法でSCCのLBC 3件（赤）の判定は、「ASC-H」「SCCを疑うが、異型細胞が少なく断定困難」「不適正」であった。

従来法（SCC）と液状化検体細胞診で 結果が異なった症例の標本



従来法



液状化検体細胞診



従来法



液状化検体細胞診



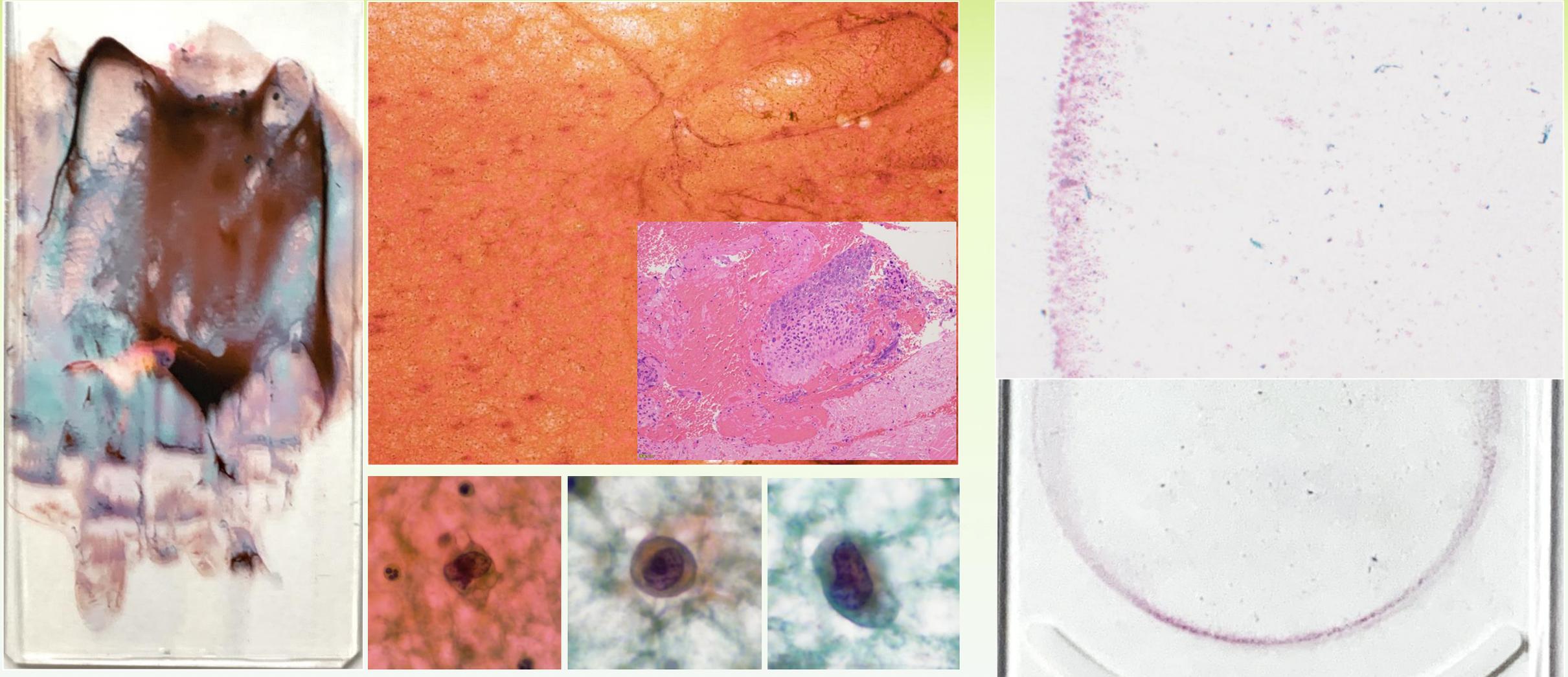
従来法



液状化検体細胞診

何れも血性の多い標本であり，ThinPrep®スライドの塗抹面には，円の中心に大きな穴がみられる。

従来法（SCC）と液状化検体細胞診（NILM）症例の細胞像



従来法には血性背景に、少数の異型細胞が出現していた。扁平上皮癌では血性の検体ある場合が多く、液状化検体細胞診では不適正検体となることがある。

検体処理の管理

血性のThipRep検体は、フィルターに目詰まりすることにより、標本に十分な細胞が転写されないことがある。このような検体では、酢酸による処理で適正標本が得られることがあり、検体処理前のバイアル内の検体の性状（血液の混入）、標本作製後のガラスの塗抹の状態により処理を行う。

酢酸処理手順

1. 血性検体を30mL以上の遠心管に移す。
2. 1200 × g 5分遠心
3. 上澄液を捨てる
4. ボルテックスで攪拌
5. 10%酢酸Cytolyt®液30mLを注入する。
6. 密栓し、数回転倒混和
7. 1200 × g, 5分遠心分離
8. 上澄を捨てる
9. ボルテックスで攪
10. PreservCyt®液を20mLを入れて、空のバイアルに移す。



血性検体



上清廃棄後



CytoLyt®液



10%酢酸Cytolyt®液30mL注入後



処理後の白濁した沈殿物

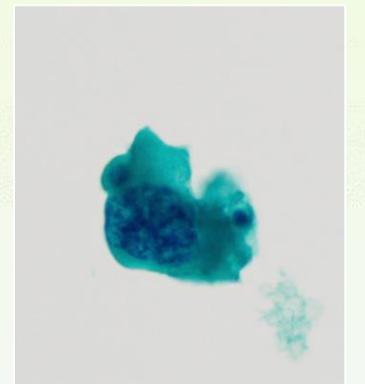
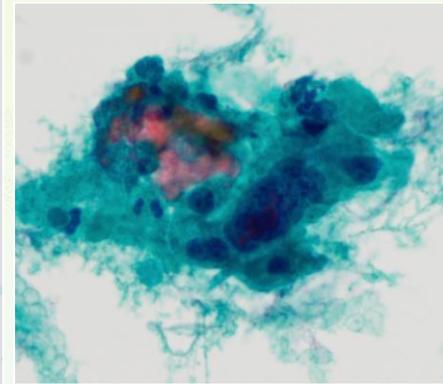
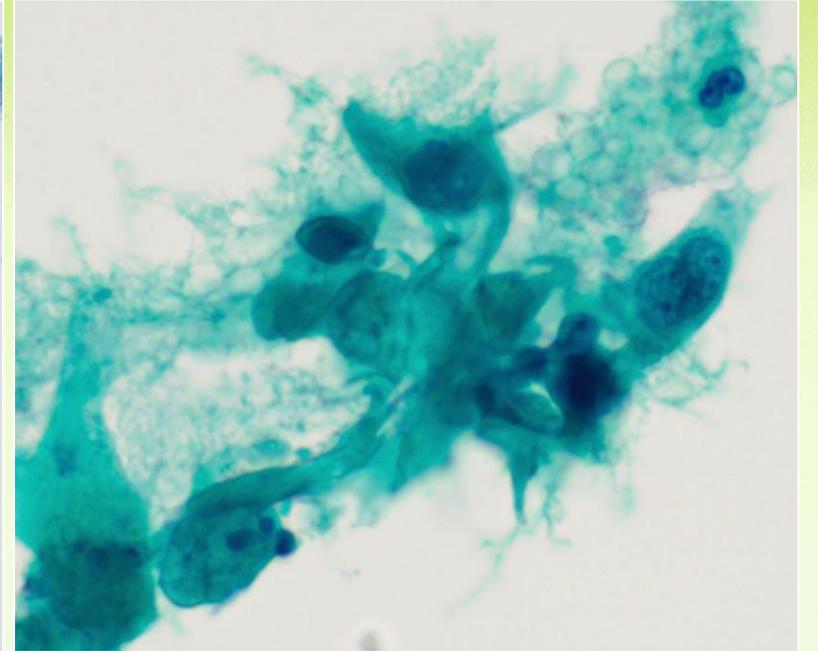
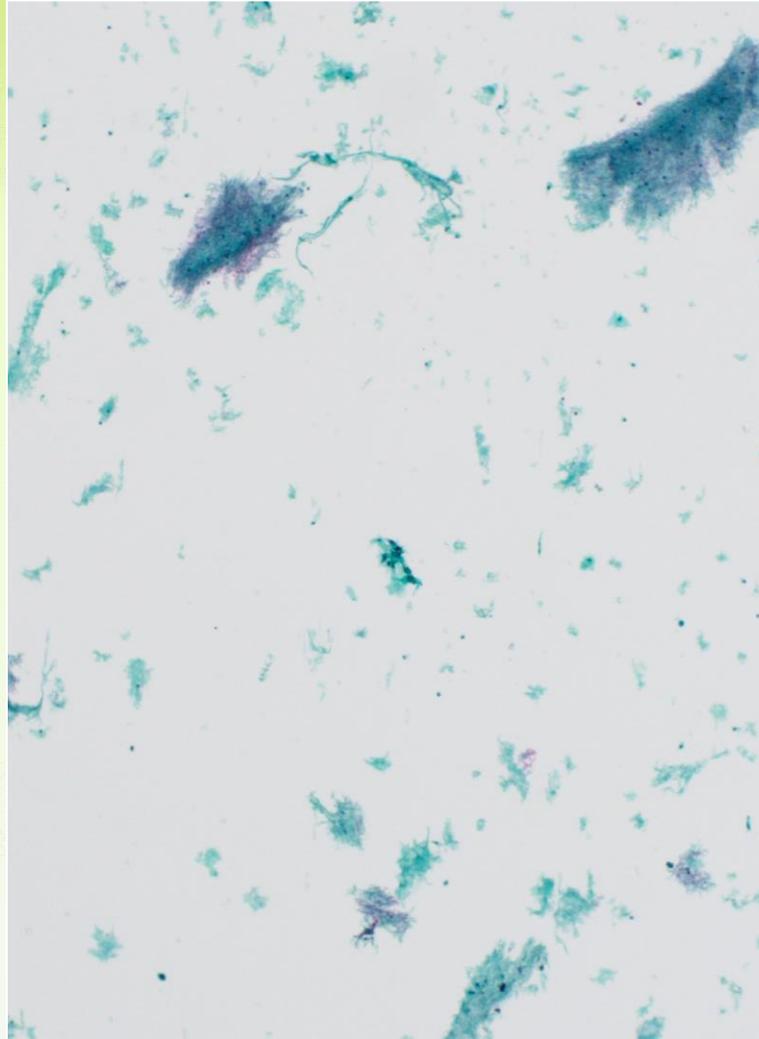


PreservCyt®液



PreservCyt®液20mLを入れ移したバイアル

酢酸による再処理後の標本と細胞像



再処理後は円の中心にも細胞がみられ、より多くの細胞成分が塗抹され、異型細胞の出現も認められる。

検体の質の管理

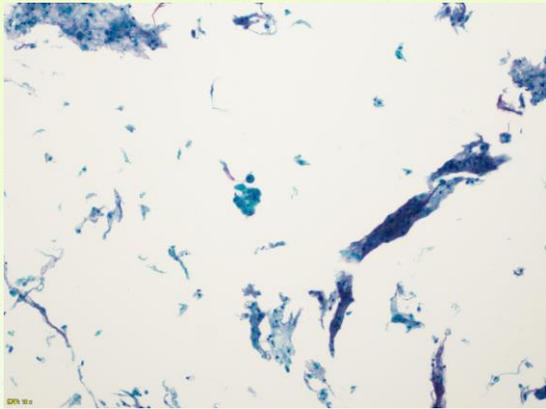
不適正検体数と臨床的背景

年度	不適正（件）		臨床所見	年齢（歳代）	細胞所見
2016年度	5	5	治療後	40~60	
2017年度	5	4	治療後	50~60	
		1	PIDフォローアップ	30	出血性
2018年度	7	7	治療後	40~70	
2019年度	10	1	検診	30	腺細胞のみ
		1	閉経後	70	
		8	治療後	40~80	

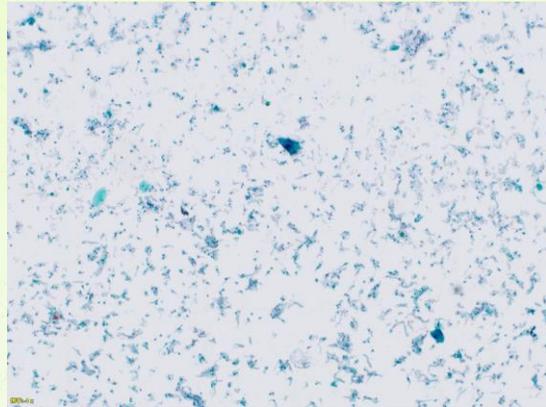
従来法，液状化細胞診ともに治療後が多く，他閉経後，月経周期のある患者では血性，腺細胞のみの採取法の起因があると考えられる。

標本の質の管理

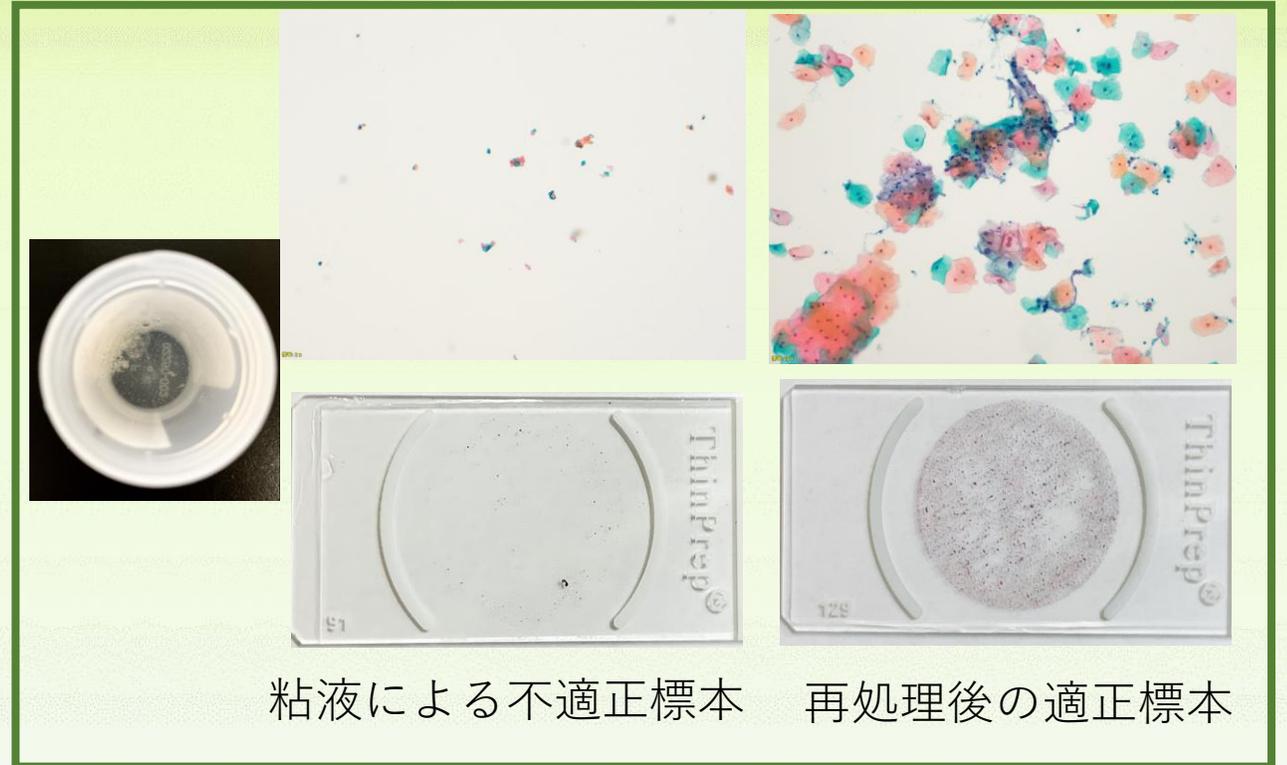
昨年度のNILMと判定したうち液状化検体の適正基準に満たなかった標本を見直し、臨床経過および組織診断と対比



閉経後の萎縮性膣炎



放射線治療後



粘液による不適正標本

再処理後の適正標本

液状化検体の適正基準に満たない標本は、150/2118（件）あり、約半数は治療後、残りの半数は閉経後の患者の標本であった。組織診断でLSIL、粘液による不適正標本があり、再処理が必要と考えられた症例が1件あった。

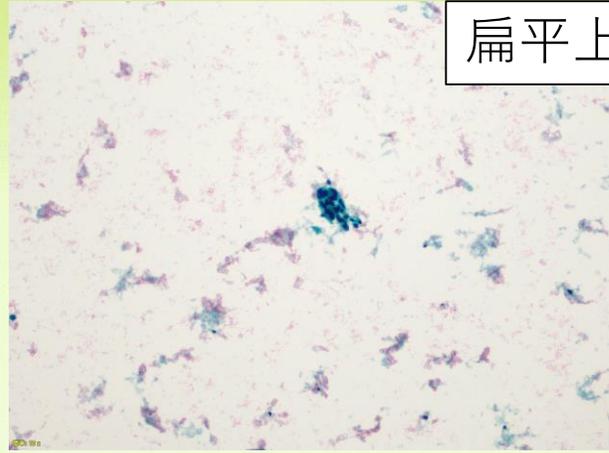
異常細胞が認められた標本の見直し

適正基準の細胞数を満たさなかった液状化細胞診

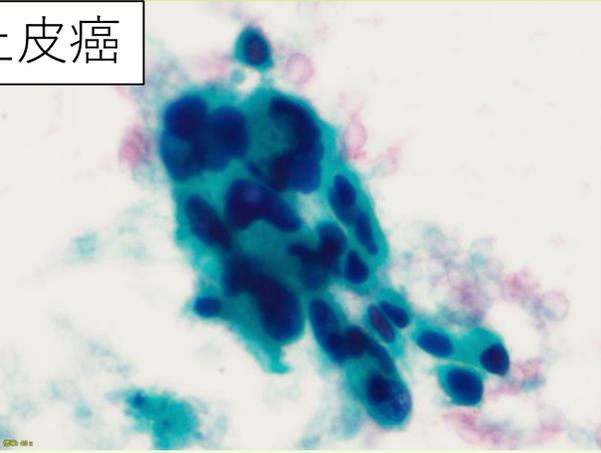
Bethesdaカテゴリー	総合判定 (件)	適正基準の細胞数を満たさな かった液状化細胞診 (件)
ASC-US	85	0
ASC-H	23	10
LSIL	114	0
HSIL	85	15
SCC	10	5
AGC	10	5
AIS	0	0
Adenocarcinoma	25	5
Other malig.	2	1
合計	354	41

昨年度の異型細胞ありと判断した354件中、適正基準の細胞数を満たさなかった液状化検体は41件。癌が占める割合（半数）が多い。

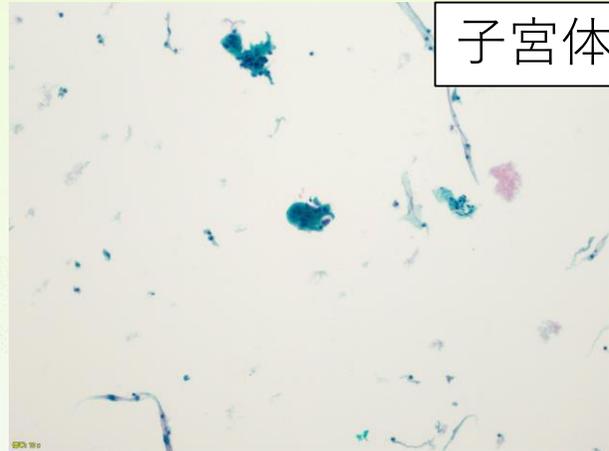
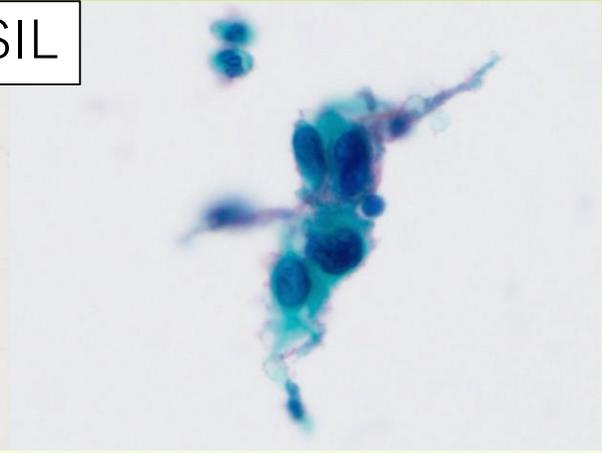
異常細胞が認められた症例のうち液状化細胞診標本が 適正基準の細胞数を満たさなかった細胞像



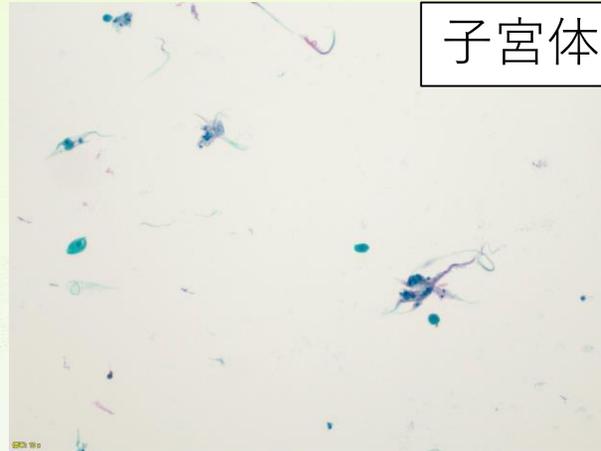
扁平上皮癌



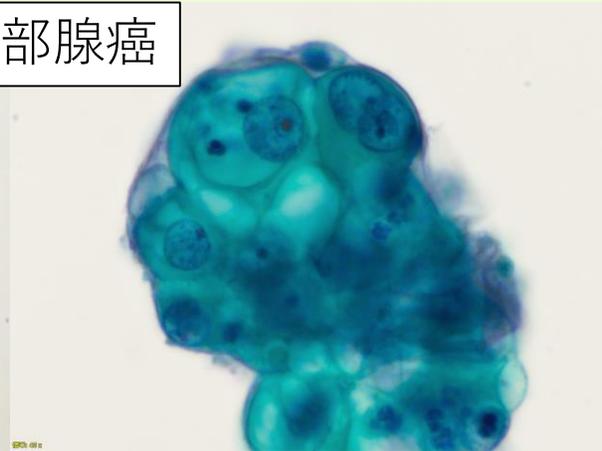
HSIL



子宮体部腺癌



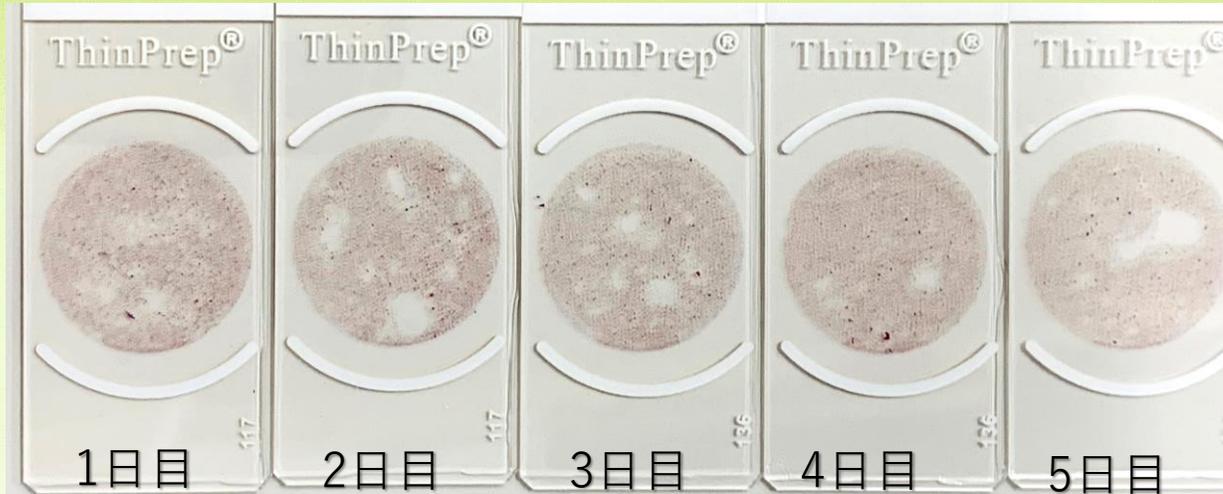
子宮体部腺癌



不適正と判定された検体は、適正検体の群と比べ、高リスク患者からのものである場合が多く、その後、相当数が扁平上皮内病変 (squamous intraepithelial lesion : SIL) または癌と診断されていた。細胞数の少ない標本と血液に覆われてみえない場合

異型細胞を見逃さないためには、このような不適正標本を注意深く観察することが重要である

染色性の管理



患者標本の染色前にコントロール標本を染色し，染色結果に問題がないことを確認

過去にあった不適切標本の原因：

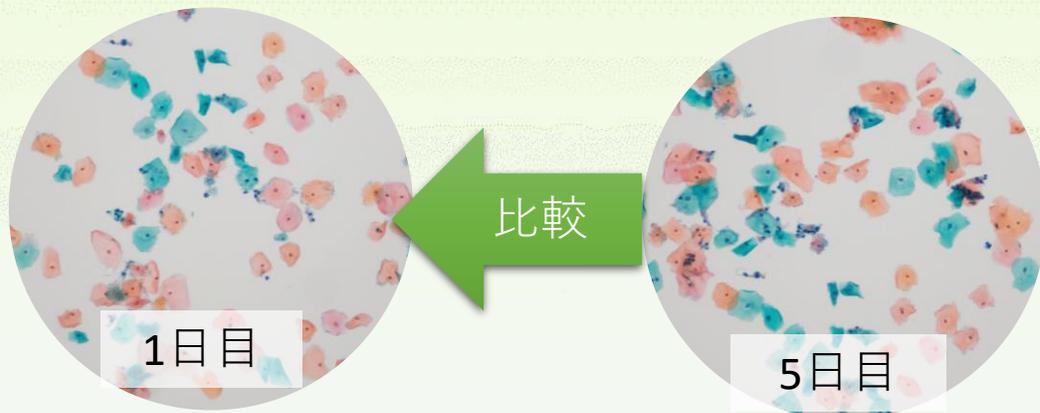
- ✓流水用の水栓の開き忘れ
- ✓色素槽，アルコール槽，キシレン槽のセット間違い.

■ 方法

コントロール標本は，同一標本が作製可能なThipRep®法による標本を使用．診断後の標本のから，染色性の多彩な細胞が多数出現している検体を選択し一週間分・5枚作製する．

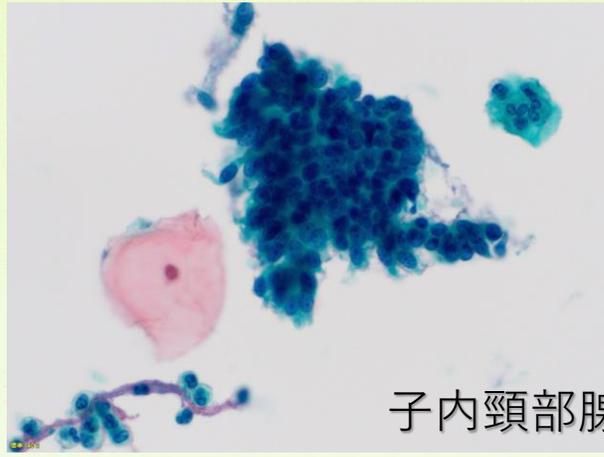
■ 評価

評価は，液交換から徐々に染色性が低下していることに気付かず，適正と誤って判断しないように，初日の標本の染色性と比較を行っている．

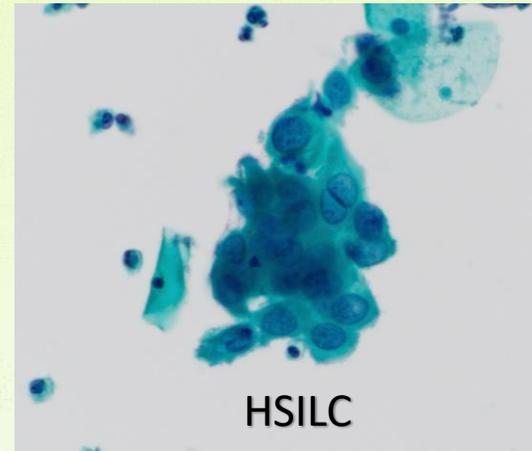
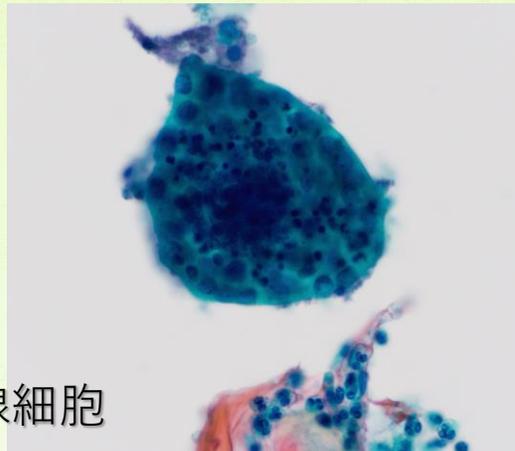


染色性の管理

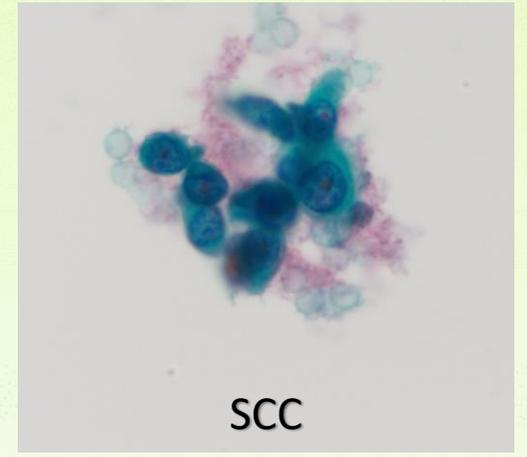
診断精度を評価した上，異型細胞の検出率を上げるための**至適**な染色性を得るためのプロトコルの検討，ときに改善が必要である。



子内頸部腺細胞



HSILC



SCC

細胞集塊は固定中に球状になるため，その結果，暗調を呈し，細胞の立体的配列によるクロマチンは過染性を示し，細胞質は乏しく，過剰判定されることがある。



核の染色性が乏しく，従来法よりもクロマチンの過染性が著明でないものがしばしばみられる。

The background features a soft-focus image of green leaves and branches, with bright sunlight filtering through, creating a bokeh effect of light spots. The overall color palette is a range of greens and yellows, conveying a sense of nature and freshness.

診断精度の管理

品質保証のツール

診断精度の管理

Bethesdaカテゴリー	2019年度の件数
ASC-US	85
ASC-H	23
LSIL	114
HSIL	85
SCC	10
AGC	10
AIS	0
Adenocarcinoma	25
Other malig.	2
合計	2876
ASC-US/ALL(%)	2.8
ASC-H/ASC-US(%)	21%
ASC/SIL	0.5

品質保証のツール

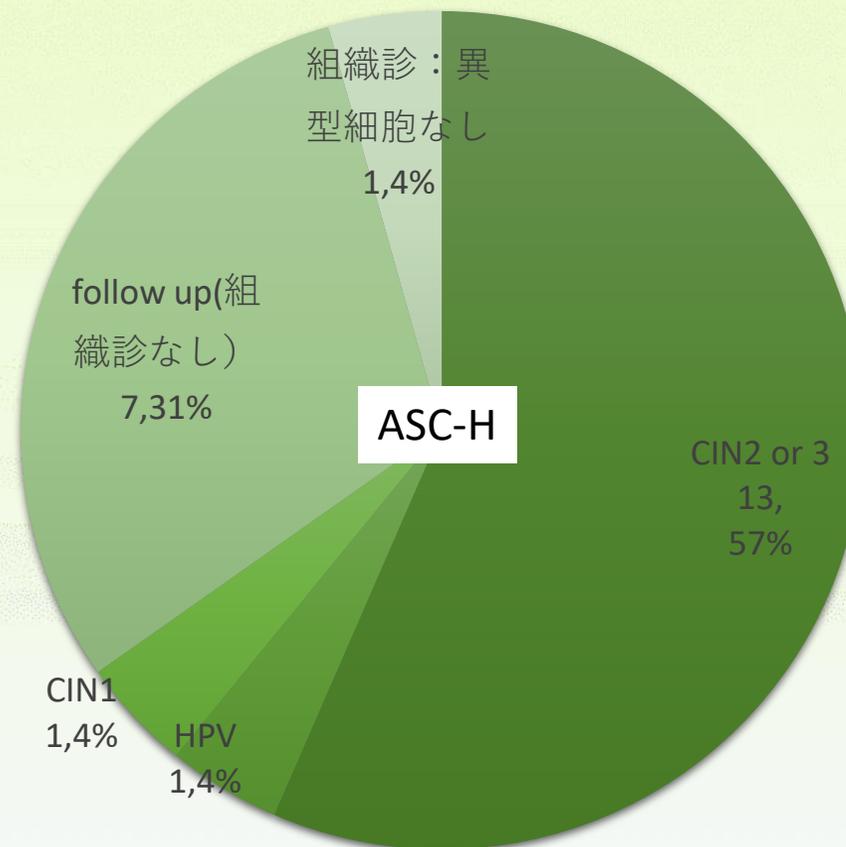
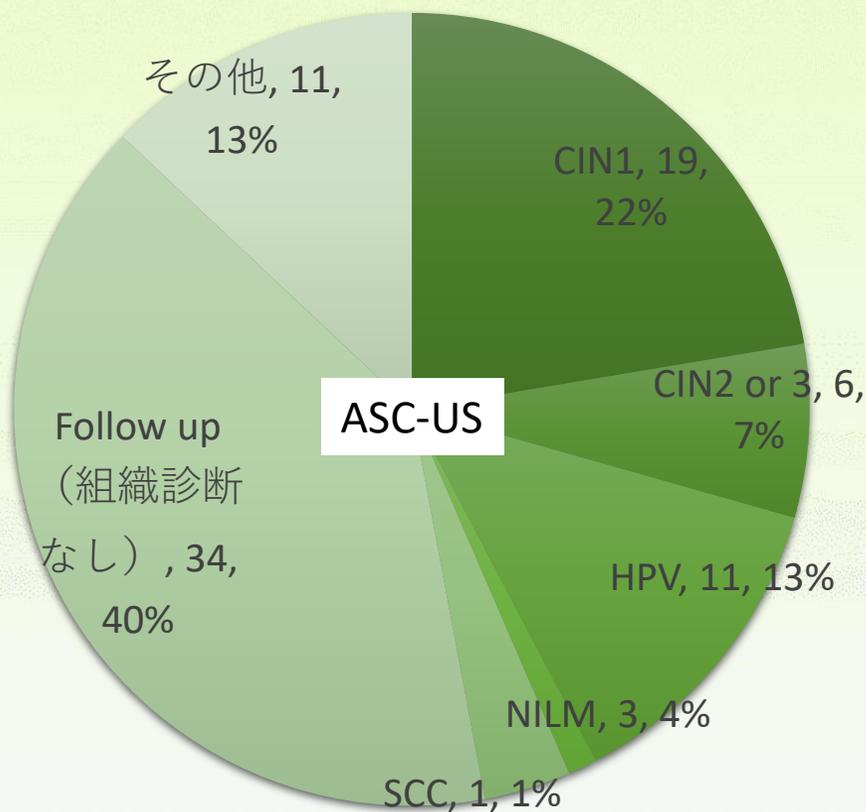
ASCとSILの比率，および全ASCに占める高リスクHPV感染状況，ASC/SIL比は1.5 リスクの高い対象を診療する機会が多い施設でもASC/SIL比は3：1を超えてはならない。

ベセスダシステム2014アトラス 4.10 品質保証より

診断精度の管理

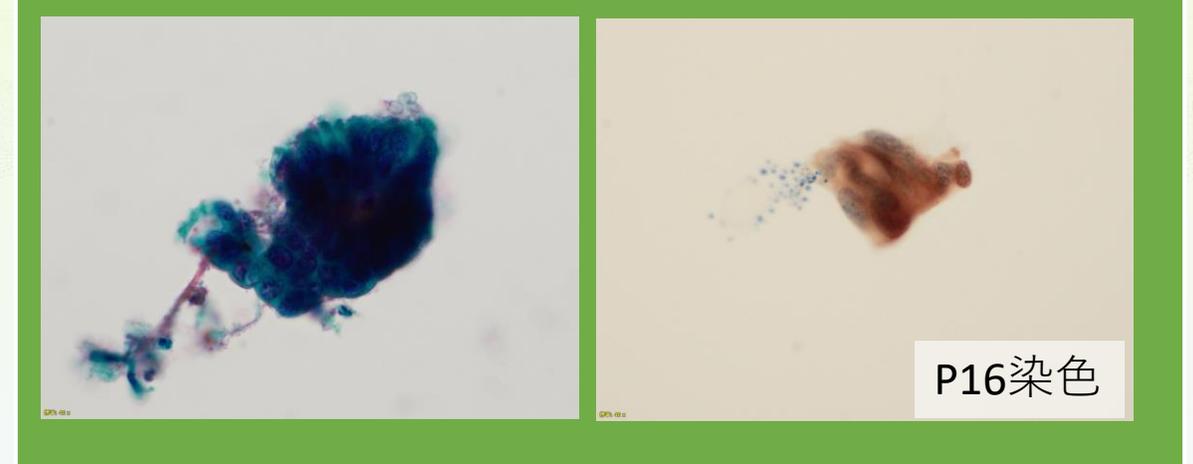
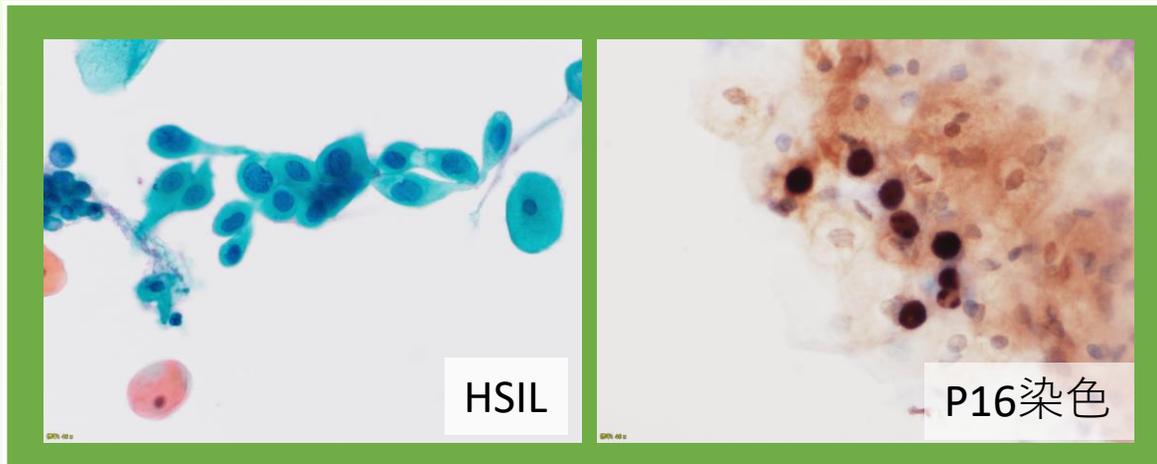
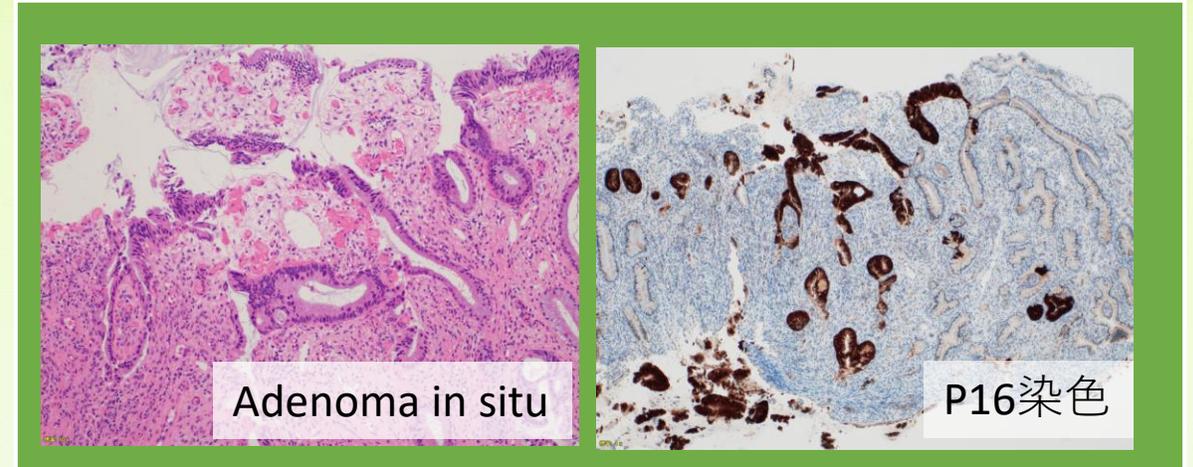
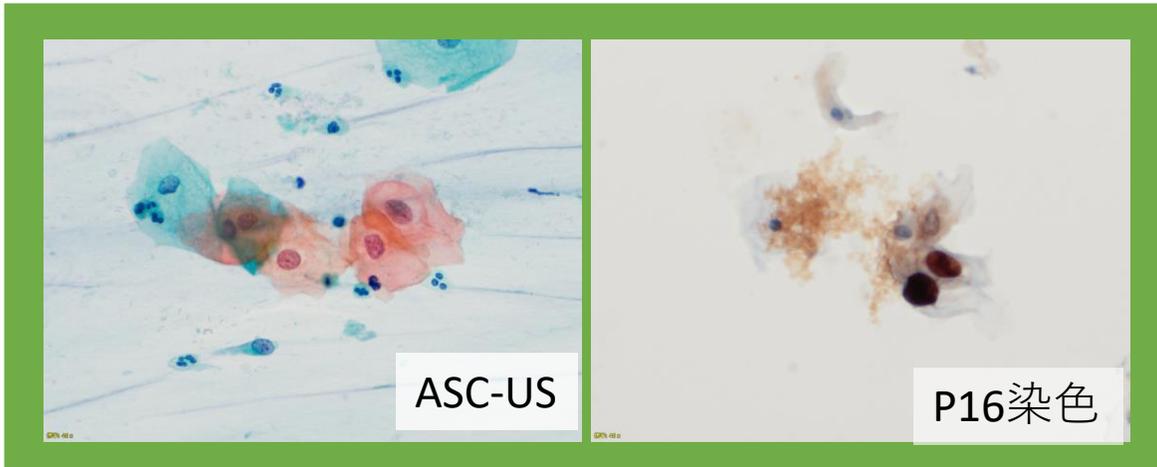
品質保証のツール

細胞診断後，経過観察で施行された組織診断結果と細胞診結果の比較



免疫細胞化学的染色

- バイオマーカーによる染色結果と細胞形態との比較により診断精度の評価および教育に活用.
- AGC, ASC-H, ASC-USの扁平上皮内病変, 腺癌, 扁平上皮癌の存在の可能性の高いことを示す補助的検査として有用



同一症例の余剰検体からLBCを作製し免疫染色実施

報告書の管理

臨床診断，経過，組織診との対比から，教育的注釈やコメントの付記の内容に不足，誤りがなかったをレビューする。

- 利用者（臨床医）へのフィードバック報告書へ教育的注釈や提案を記載することが重要であり，責務である。

■ 提案が有用となり得る状況の例

1. 不適正検体を受け取った後，再提出検体の質の向上のため
2. さらなるトリアージや管理が必要となる細胞所見を有する患者の特定のため
3. あいまいな細胞所見明確にするのにさらなる精査が必要であることを指示するため
4. スクリーニング検査としての子宮頸部細胞診の性能限界を呈示するため（免責事項）

参考：ベセスダ2014アトラスより

検体採取時の注意事項

CERVICAL CANCER SCREENING

ThinPrep® Pap Test™ 使用法ガイド
ブルーム型ブラシプロトコル

THE ThinPrep® PAP TEST

細胞採取を行う前に

- 血液や過剰な粘液・滲出液を、ガーゼや綿棒などであらかじめ除去してください。
- 従来法と同様に、月経時の細胞採取は出来る限り避けることをお勧めします。

採取する

ブルーム型ブラシで、子宮頸部から十分に細胞を採取します。子宮頸管内にブラシの中央部を挿入します。周りの短いブラシ部分が、子宮頸部に接するところまで挿入してください。ブラシをそっと押し付け、右に5回転させて下さい。採取後は、すぐにPreservCyt®液バイアルに入れて下さい。

注意! 採取器具を強く患部におしつけると出血する場合がありますので、ご注意ください。

すすぐ

ブラシをPreservCyt®液バイアルに入れて、容器の底で毛先が広がるように素早く10回押し付けて下さい。バイアル内で最後に強くかき回し、ブラシを廃棄します。

注意! ブルーム型ブラシの先端部分（白い部分）はバイアル内に落とさないで下さい。アルコール成分により頸管粘液などが凝固しブラシ部分からの細胞の分離回収が不十分になる可能性があります。



まとめ

● 標本の質の管理

- ThinPrep®法による標本作製原理の理解
- 不適正となり得る起因の理解と診断後の見直しによる不適正標本の原因究明
- 染色性の管理, 改善

● 診断精度の管理

- ThinPrep®法で作製された細胞像の特徴を理解
観察上の注意点：血性検体, 炎症性細胞, 壊死物, クロマチンの染色性
- 品質保証ツール
- 細胞診断後, 経過観察で施行された組織診断結果と細胞診結果の比較
- 補助的検査 (免疫細胞化学的検査)
細胞形態との比較により診断精度の評価および教育