

# 当院における経気管支擦過細胞診の 細胞診検体取扱いについて

2015.6.13 第56回 日本臨床細胞学会総会 春期大会  
ワークショップ2

肺癌細胞診と遺伝子検索—検体材料の取扱いを中心に—

龍見重信<sup>1)</sup> 西川 武<sup>1)</sup> 鈴木久恵<sup>1)</sup> 田中京子<sup>1)</sup>  
内山智子<sup>2)</sup> 森田剛平<sup>2)</sup> 高野将人<sup>2)</sup> 中井登紀子<sup>2)</sup>  
畠山金太<sup>2)</sup> 大林千穂<sup>2)</sup>

1) 奈良県立医科大学附属病院病院病理部

2) 奈良県立医科大学病理診断学講座

# はじめに

- 呼吸器領域では癌細胞の存在診断のみならず治療法選択のために組織診断、非小細胞癌に対しては分子診断が求められている
- 細胞診検体を用いて、従来の形態診断に加え、免疫染色やEGFR遺伝子変異検査、ALK免疫染色、FISH検査が必要となる場合もある
- 液状細胞診（liquid-based cytology:以下LBC法）が、呼吸器領域でも期待されている

# 擦過細胞診と生検の診断比較

## 生検

経気管支擦過細胞診

	なし	Noma1	Adeno	SCC	Small	NSCLC	other	計
判定不能	0	5	0	0	0	1	0	6
Noma1	12	62	5	1	0	0	1	81
Adeno	3	5	22	0	0	0	0	30
SCC	1	0	0	10	0	0	0	11
Small	0	1	0	0	10	0	0	11
NSCLC	0	0	7	4	0	2	0	13
other	0	0	0	0	1	0	2	3
鑑別困難	1	4	4	0	1	0	3	13
suspicious	0	2	1	0	1	0	3	7
計	17	79	39	15	13	3	9	175

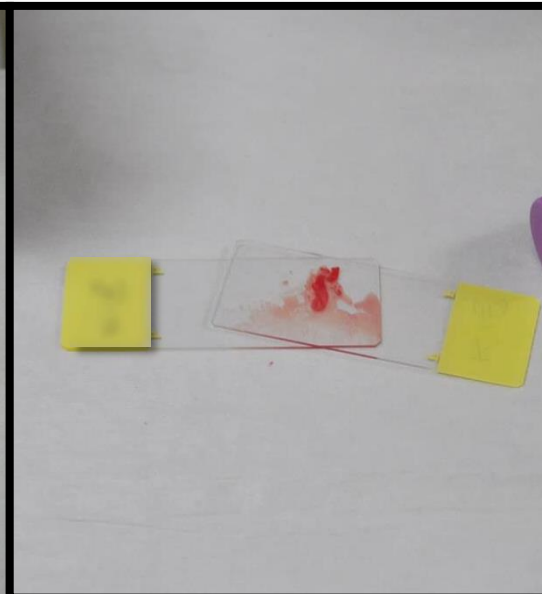
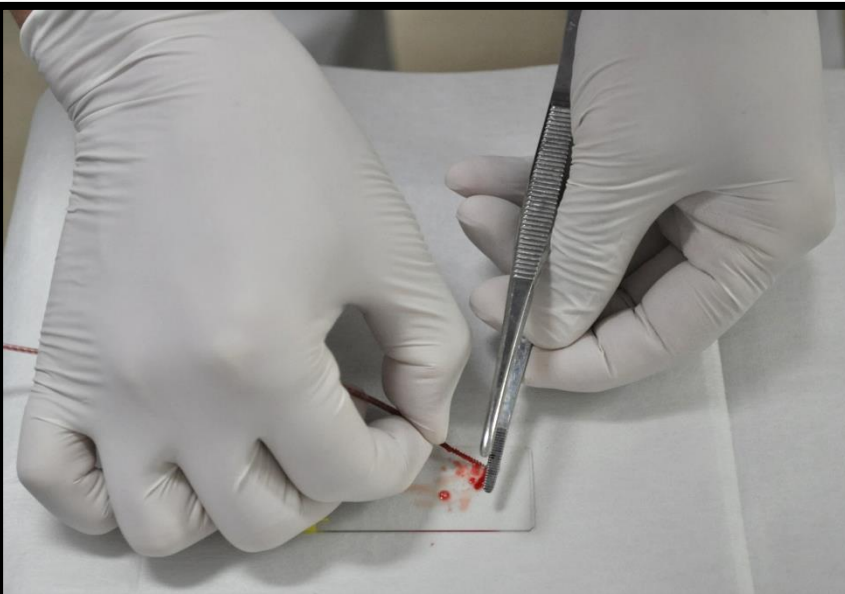
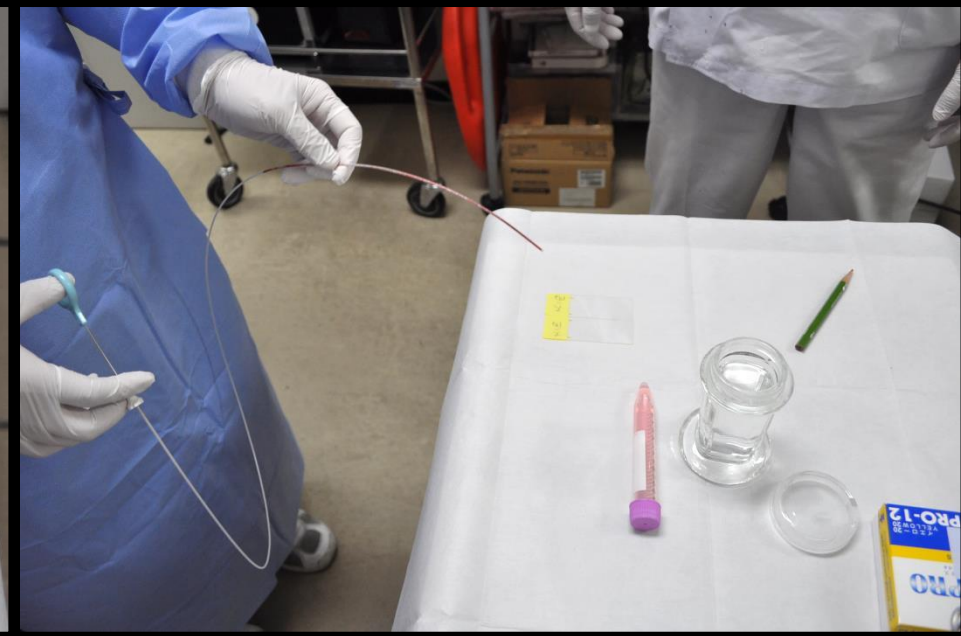
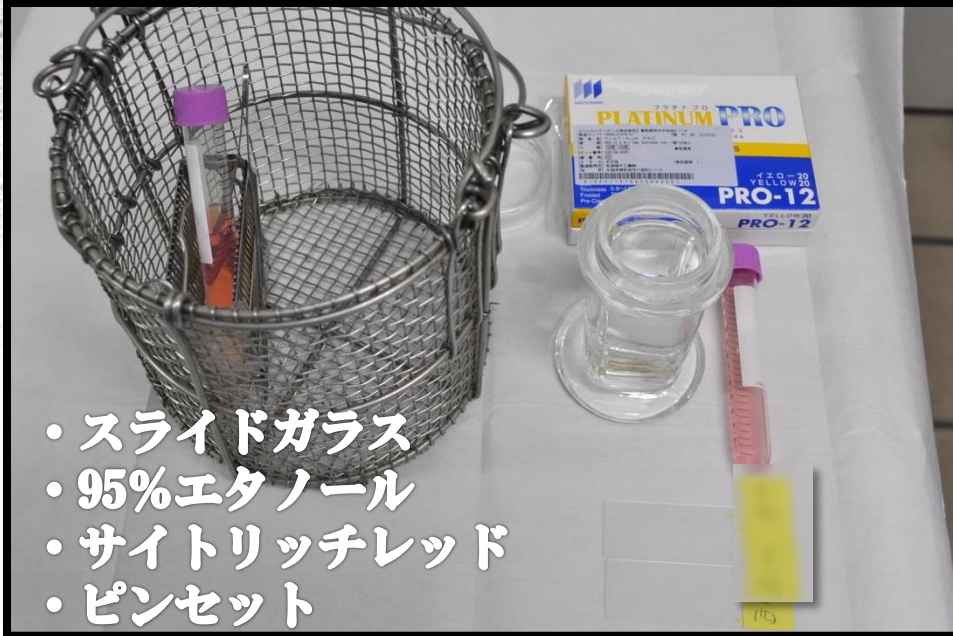
# 経気管支擦過細胞診 検体採取からの流れ



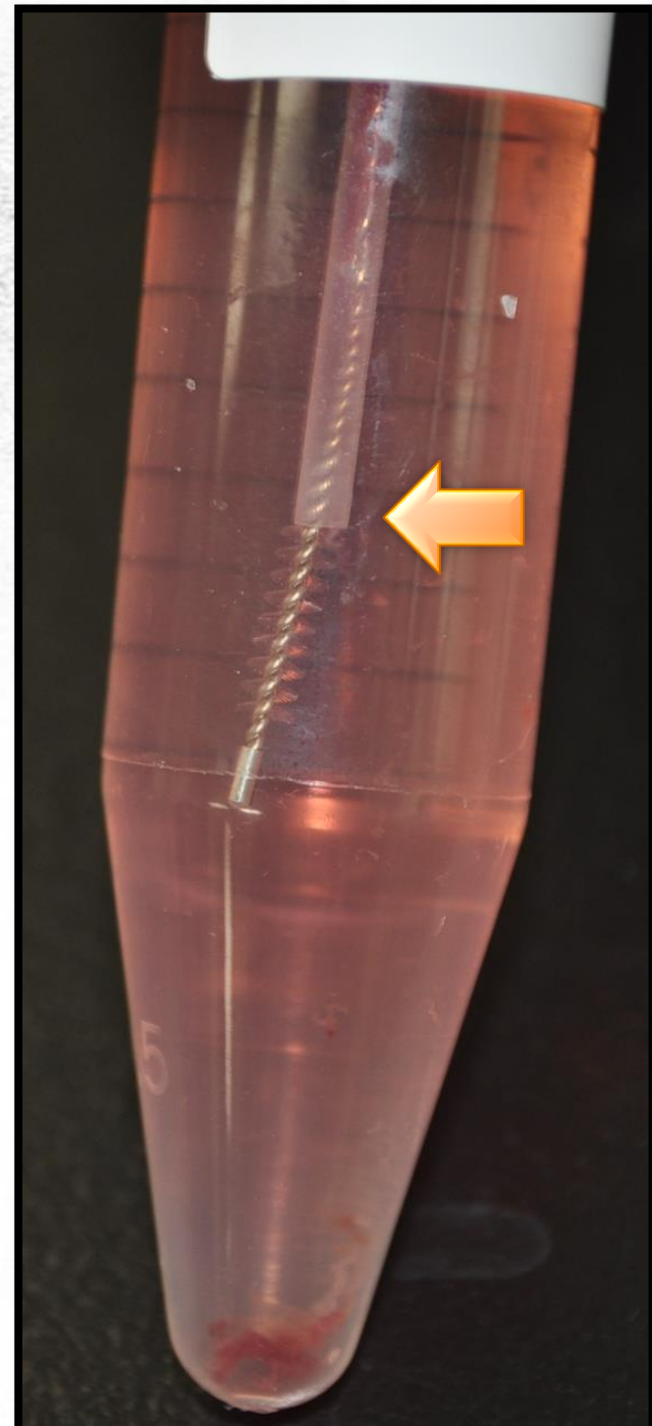
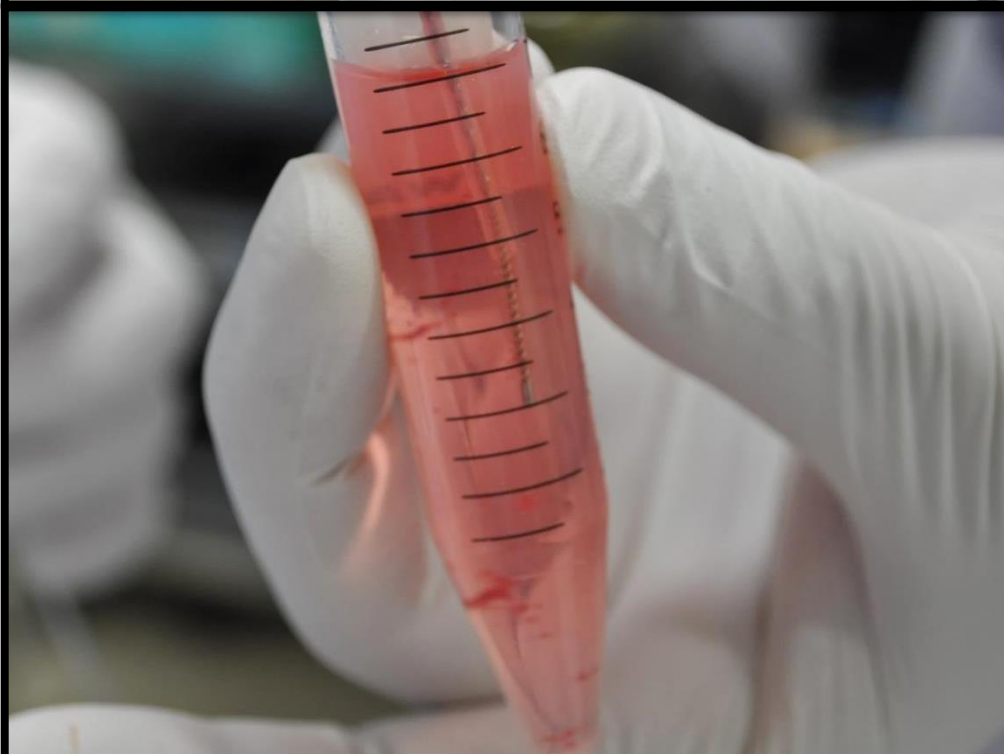
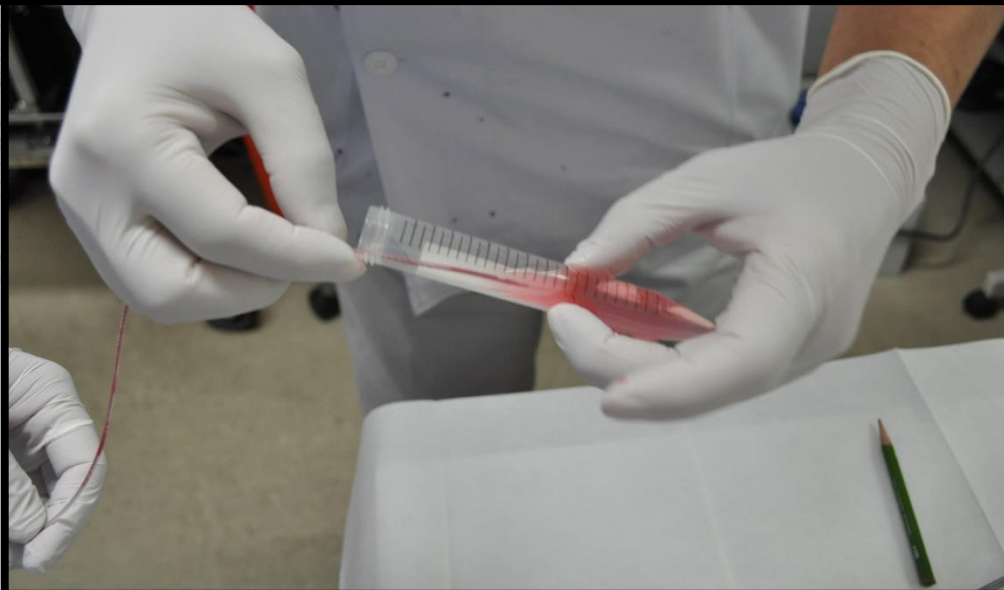


# ①検体採取

- ・スライドガラス
- ・95%エタノール
- ・サイトリッチレッド
- ・ピンセット

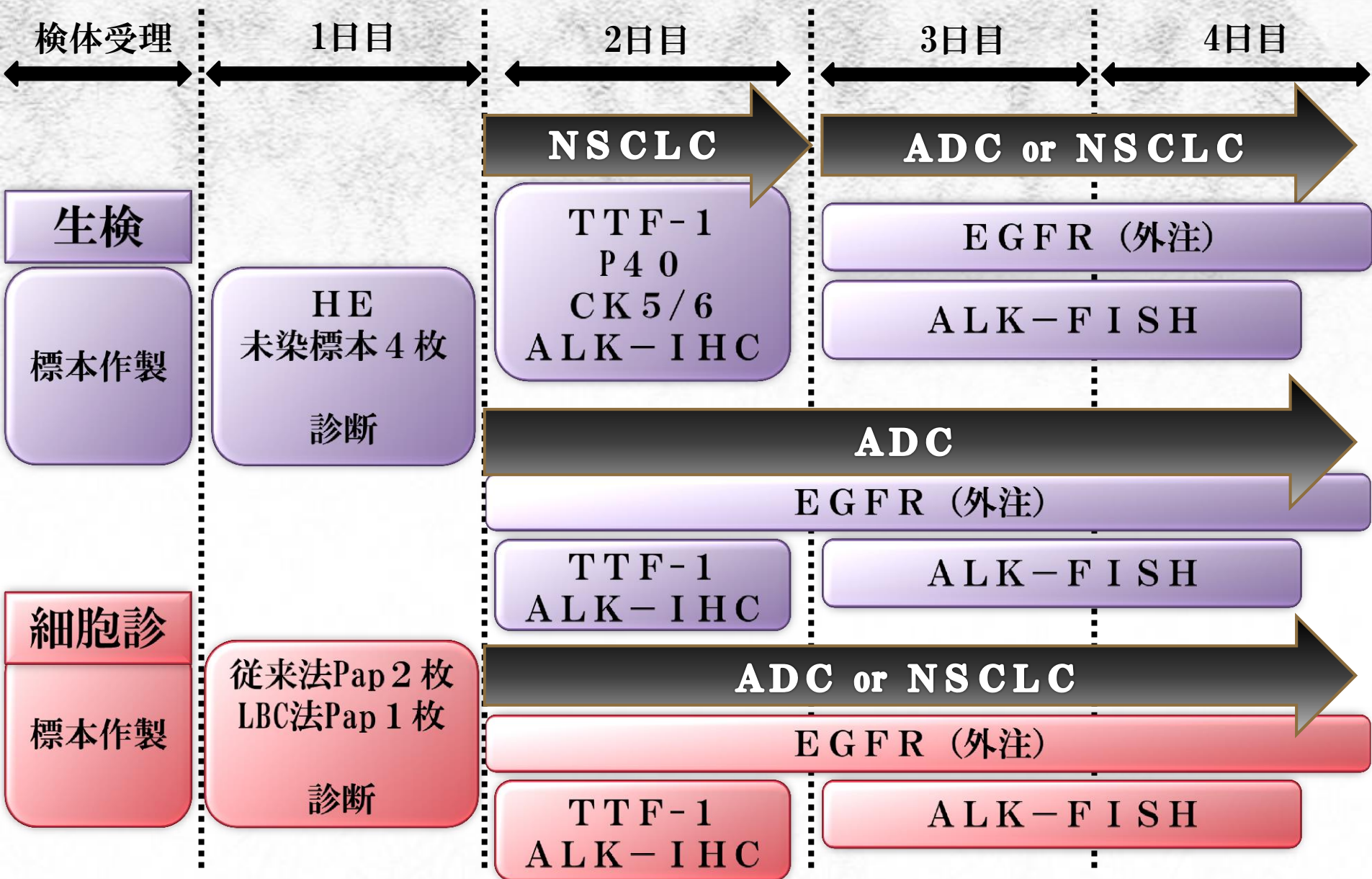


# サイトリッチレッド保存液にて洗浄





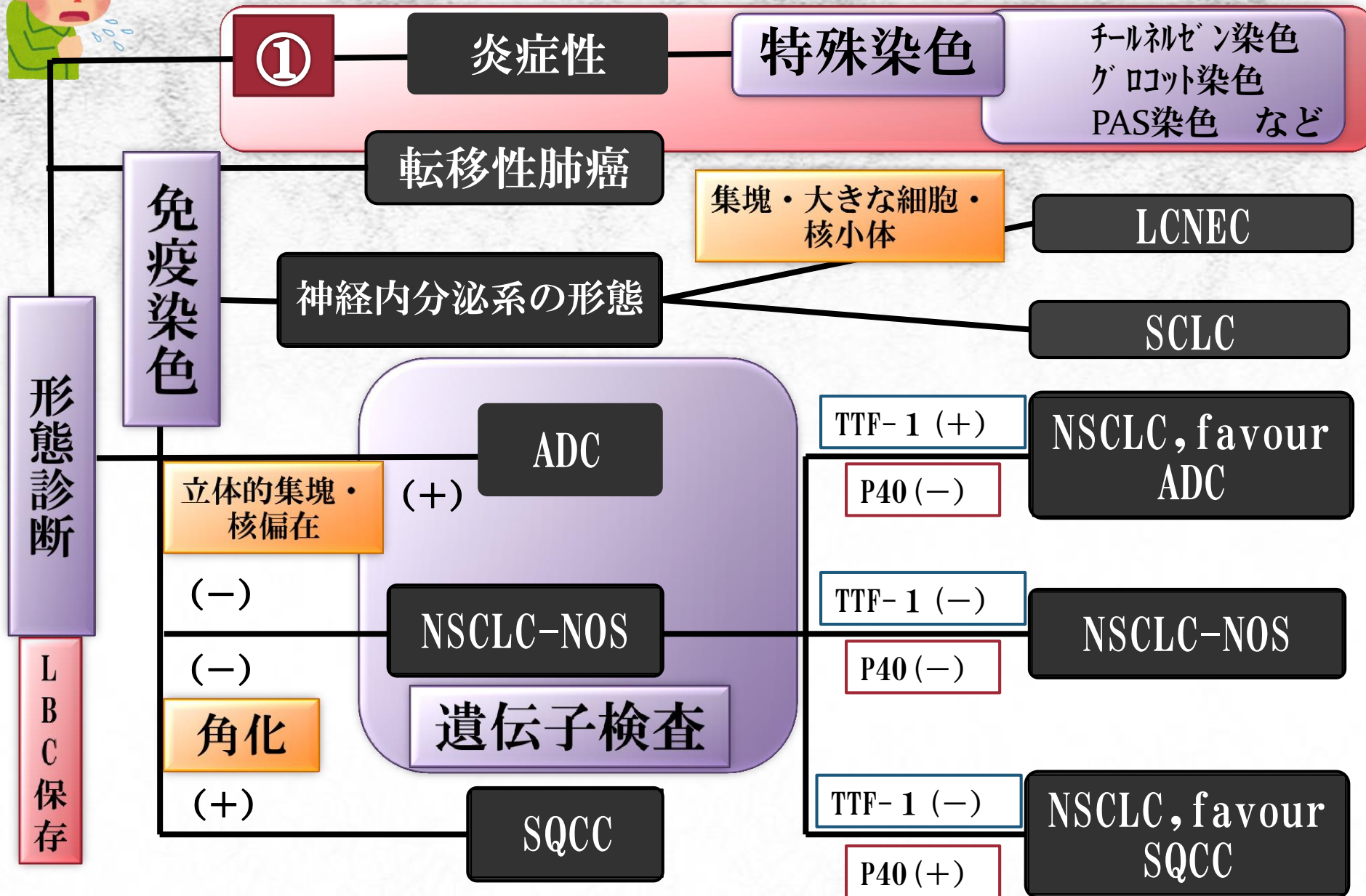
# ②検体受理から報告まで



NSCLC : non-small cell lung cancer

ADC : adenocarcinoma

# ③細胞診断のアルゴリズム





50代 男性

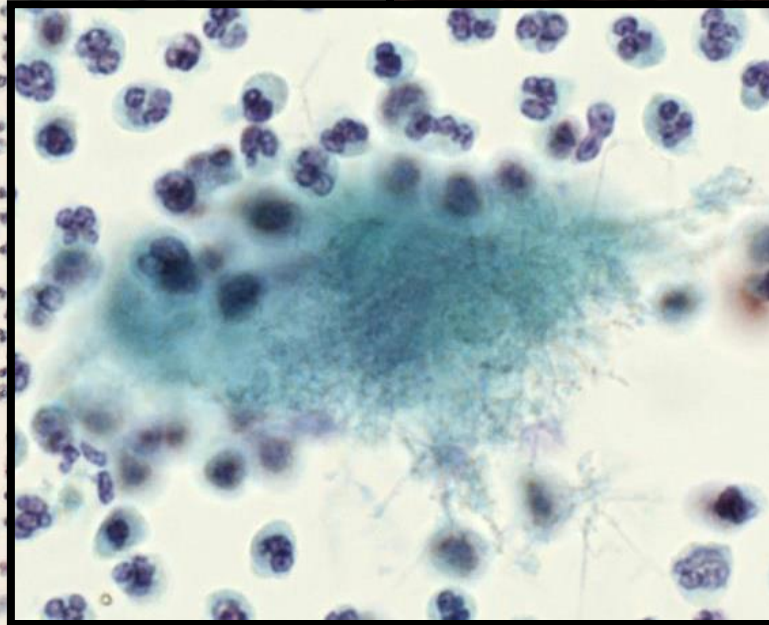
【主訴】 咳嗽・血痰・倦怠感

【既往歴】 急性肺炎・肺気腫

【生活歴】 ex-smoker 50~60本／日 (20代~)

LBC

従来法

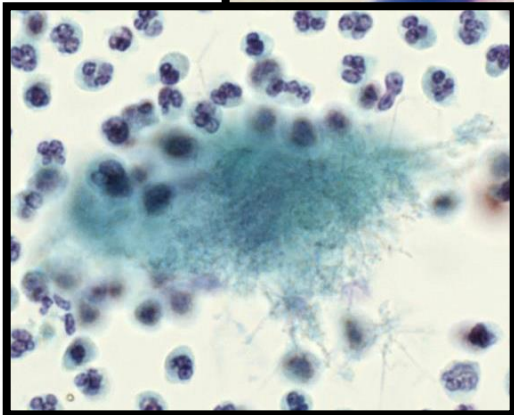
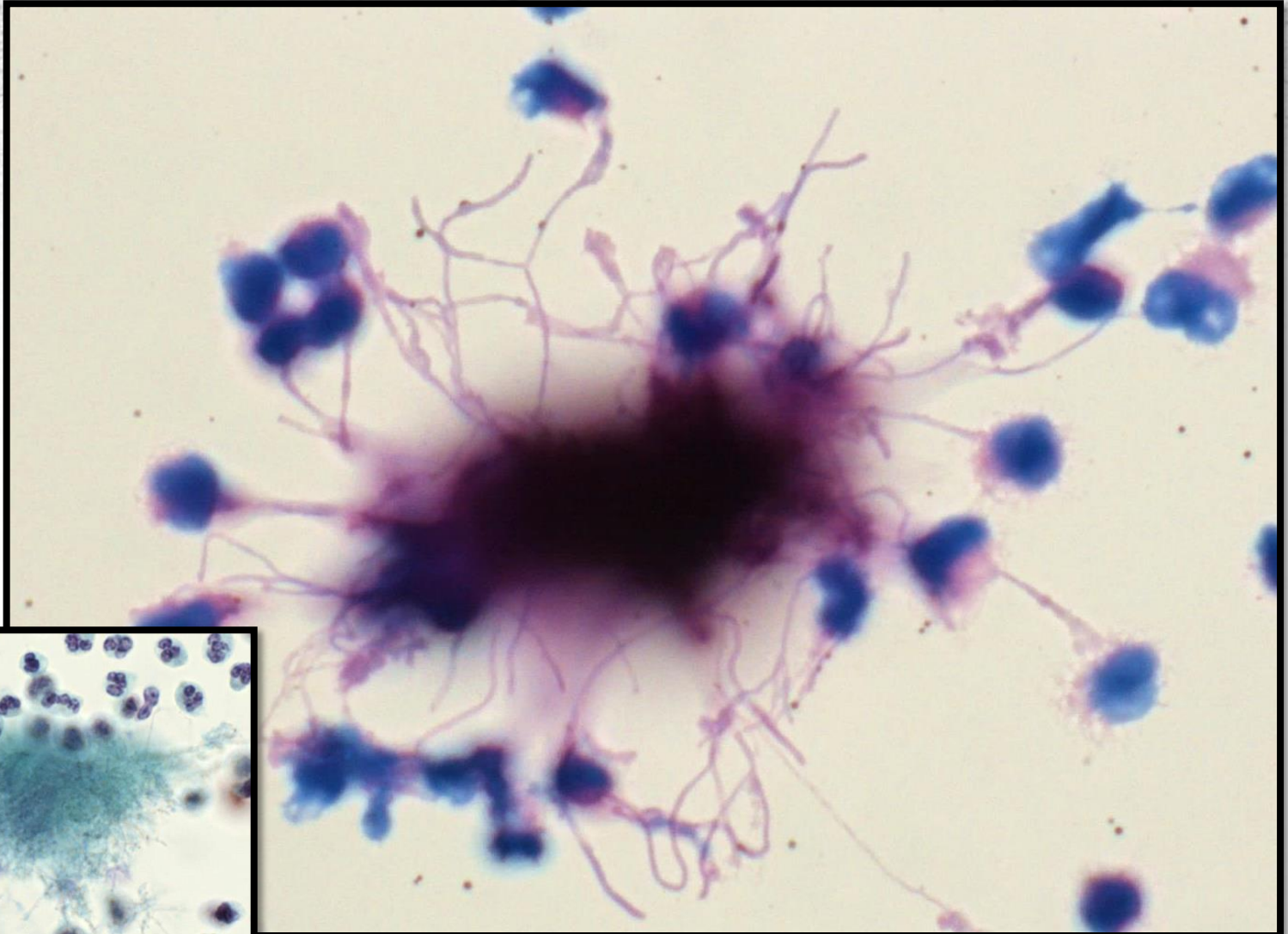


気管支擦過



# チール・ネルゼン染色

弱抗酸菌群：ノカルジア感染症の疑い



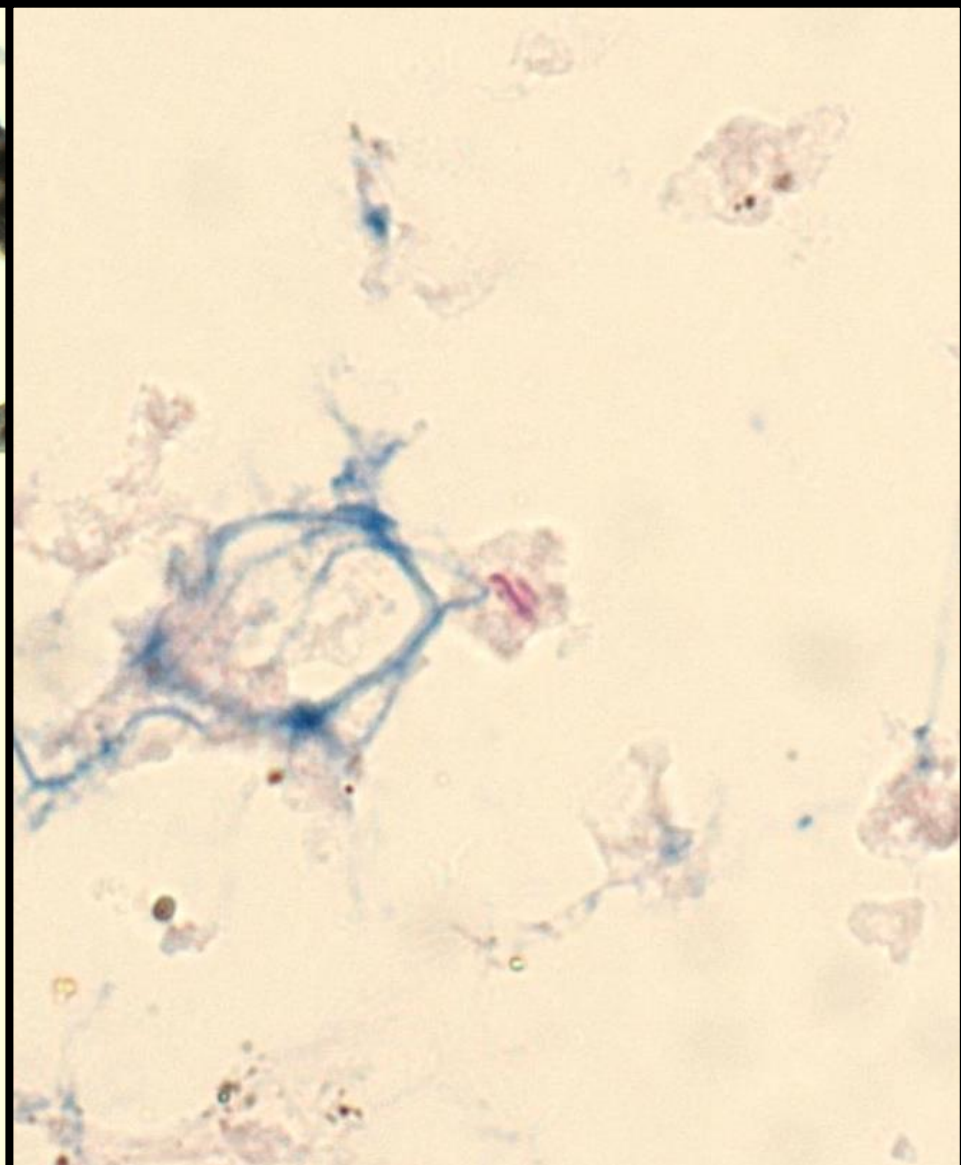
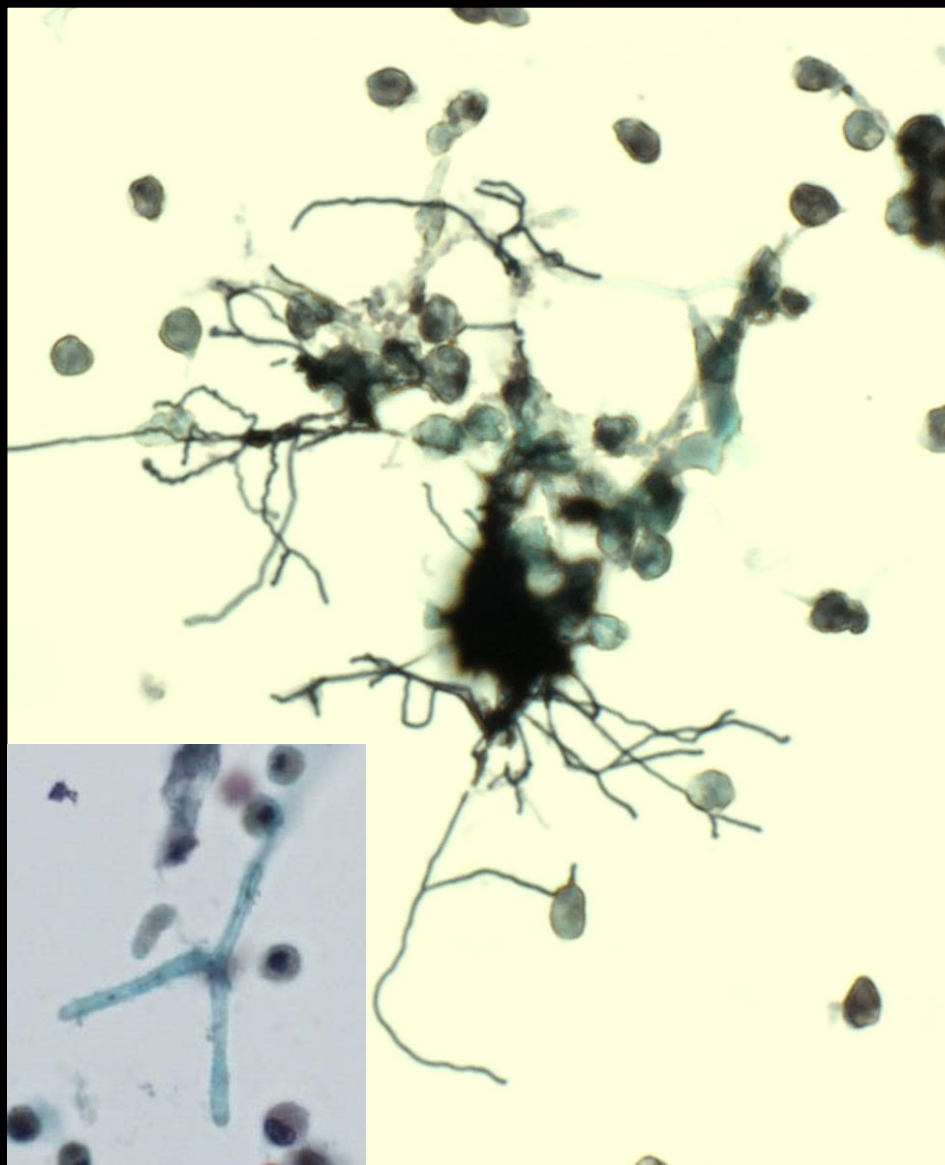
生検・微生物検査では検出されず

グロコット染色

*Aspergillus fumigatus*

チール・ネルゼン染色

結核菌





# 免疫染色

## 対象

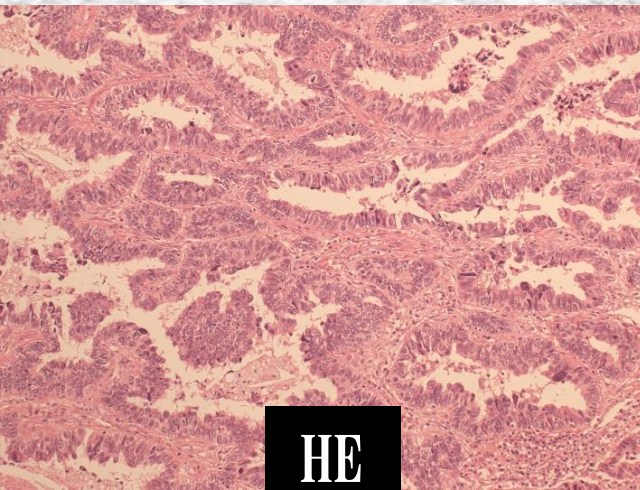
2014年1月から10月に切除された原発性肺癌194症例の内、病変部から細胞採取が可能であった50症例中、組織診断時に免疫染色を行った19症例

## 方法

Roche BenchMark XTを使用し、プロトコールは組織標本、LBC標本いずれもRoche推奨プロトコールに従い、以下の項目において比較検討を行った

抗体名	クローン名	抗体名	クローン名
TTF1	SPT24	CK20	KS20.8
p40		CDX2	AMT28
CD56	1B6	Mammaglobin	31A5
Synaptophysin	MRQ-40	HAS	OCH1E5
ChromograninA	DAK-A3	Glypican-3	1G12
CK7	OVTL	AFP	

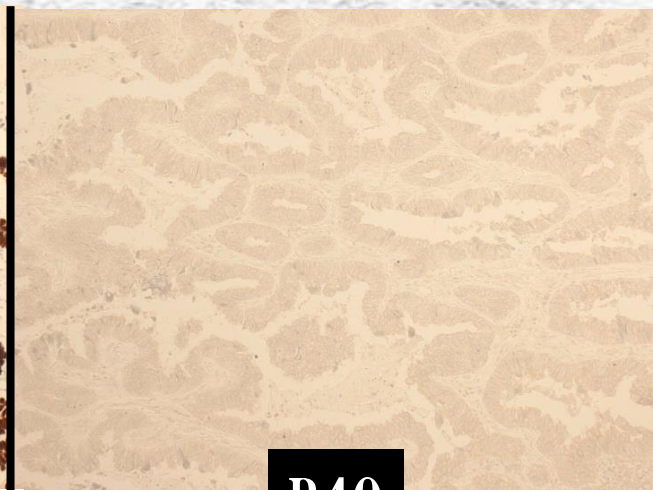
# 結果①組織型の推定



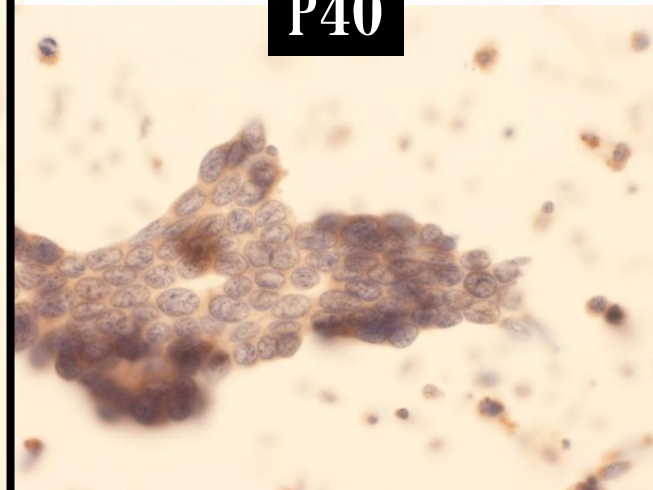
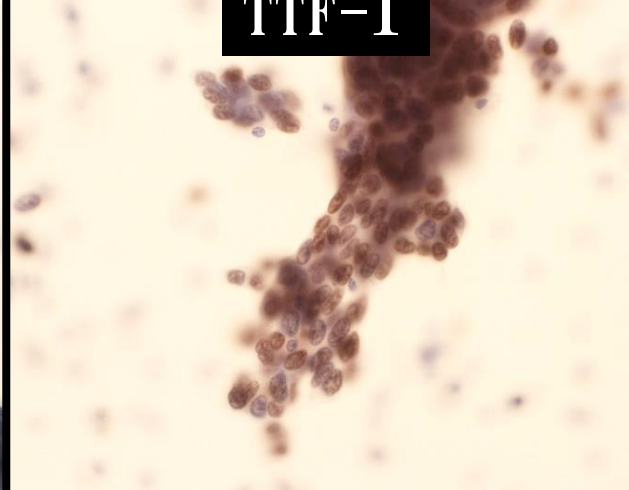
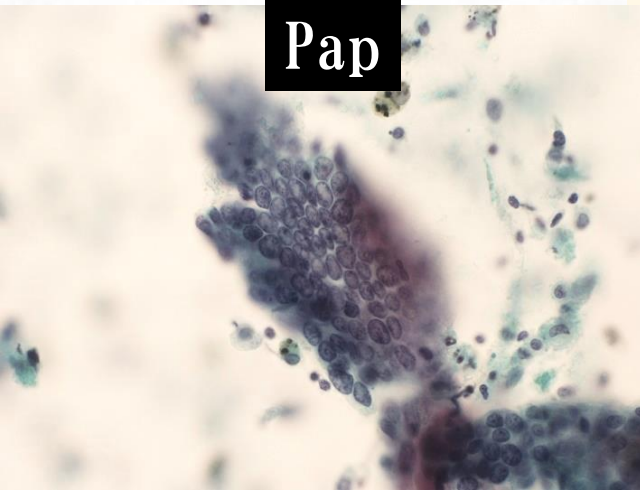
HE  
Pap



TTF-1



P40



Primary left lung cancer  
;adenocarcinoma with mixed subtype



# ①EGFR遺伝子変異解析（Cycleave法）

切除検体よりEGFR遺伝子変異が検出された、LBC検体のEGFR遺伝子変異の再測定を行ったところ、組織標本と同様の結果が得られた

	生検 組織標本		切除肺 LBC標本	
症例①	EGFR G719X(CYCL)	ハンイチ	EGFR G719X(CYCL)	ハンイチ
	EGFR EX19 (CYCL)	ケツツナシ	EGFR EX19 (CYCL)	ケツツナシ
	EGFR T790M(CYCL)	ハンイチ	EGFR T790M(CYCL)	ハンイチ
	<b>EGFR L858R(CYCL)</b>	<b>ハンアリ</b>	<b>EGFR L858R(CYCL)</b>	<b>ハンアリ</b>
	EGFR L861Q(CYCL)	ハンイチ	EGFR L861Q(CYCL)	ハンイチ
症例②	EGFR G719X(CYCL)	ハンイチ	EGFR G719X(CYCL)	ハンイチ
	<b>EGFR EX19 (CYCL)</b>	<b>ケツツアリ</b>	<b>EGFR EX19 (CYCL)</b>	<b>ケツツアリ</b>
	EGFR T790M(CYCL)	ハンイチ	EGFR T790M(CYCL)	ハンイチ
	EGFR L858R(CYCL)	ハンイチ	EGFR L858R(CYCL)	ハンイチ
	EGFR L861Q(CYCL)	ハンイチ	EGFR L861Q(CYCL)	ハンイチ



## ②ALK融合遺伝子解析

### 対象

肺切除標本における組織診断時にiAEP法（ヒストファイン ALK iAEP<sup>®</sup> キット:ニチレイ）にてALK免疫染色を行った陰性16症例及び陽性1症例

### 方法

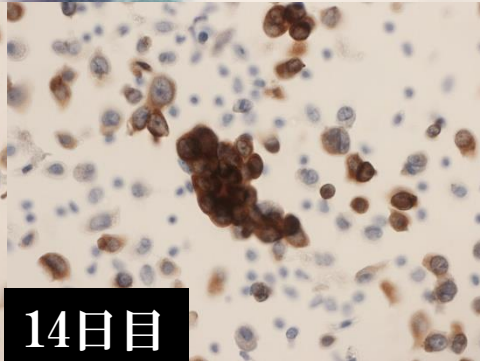
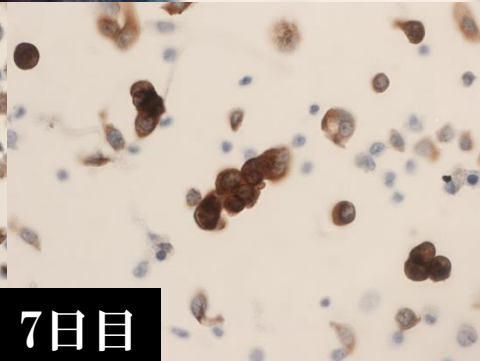
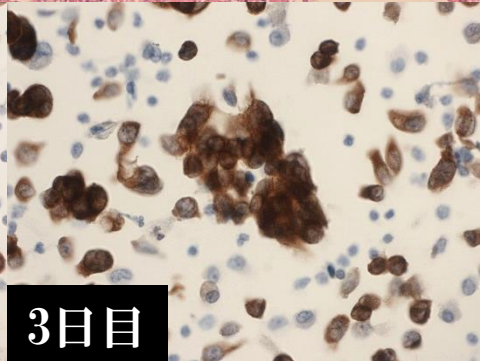
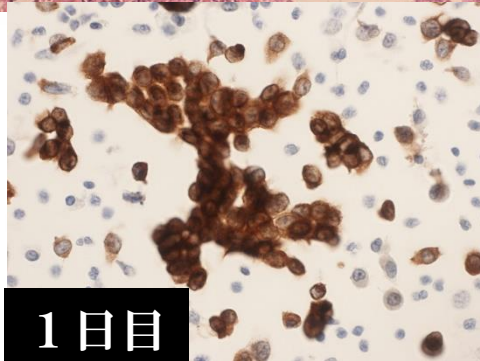
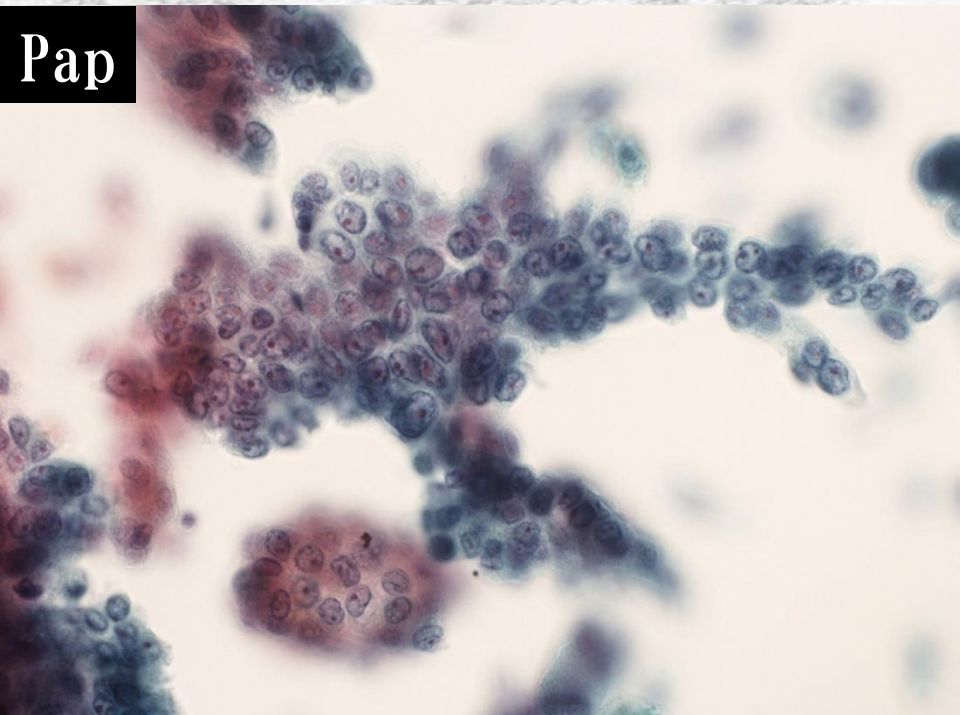
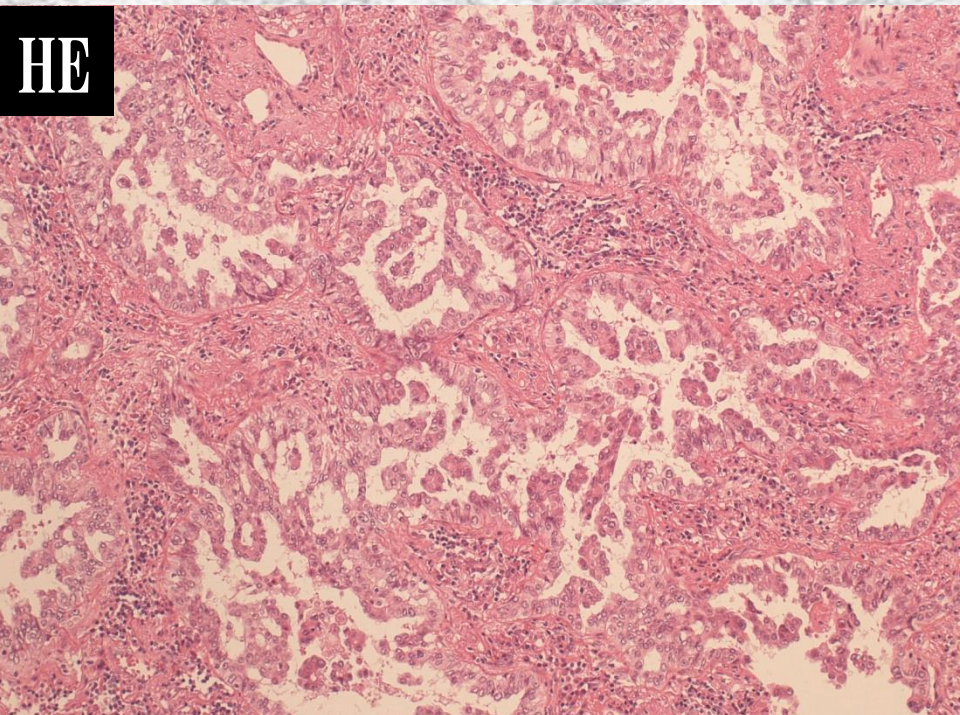
LBC検体を用い免疫染色（iAEP法）を施行し染色性の比較を行った

ALK陽性肺癌症例では、肺切除標本及びLBC検体を4本採取、1日、3日、7日、14日固定後、iAEP法及びFISH法（Vysis ALK Break Apart FISHプローブキット:アボット）を行い経時的な影響の検討を行った

# 結果

## ①免疫染色 (iAEP法)

陰性：16例  
陽性：1例

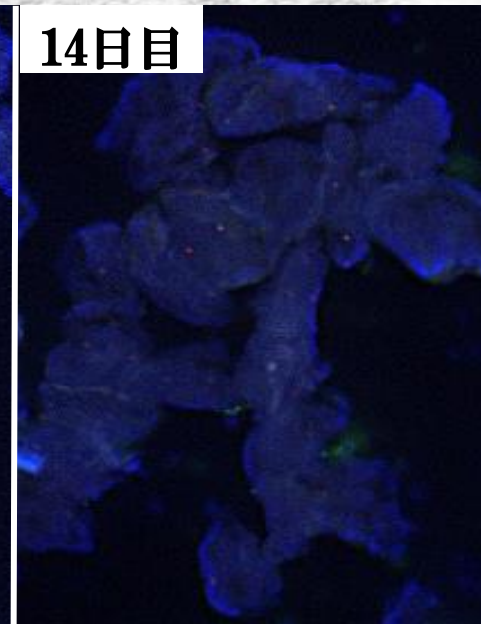
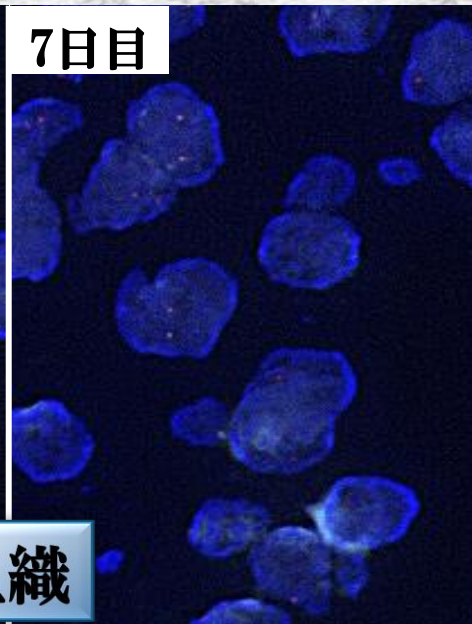
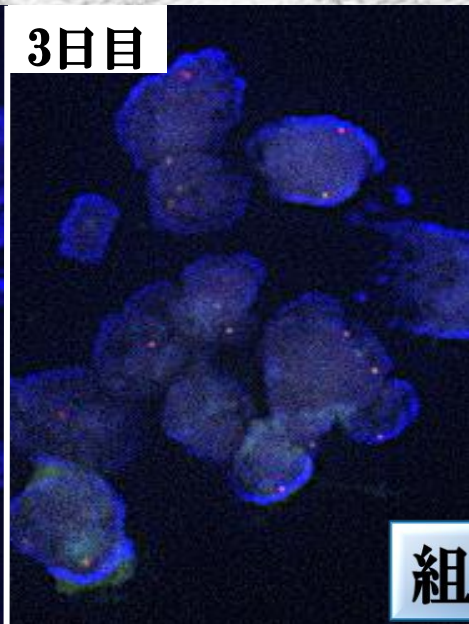
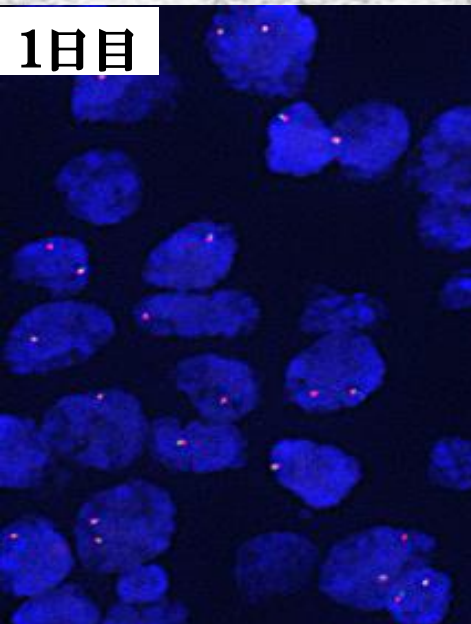


Invasive adenocarcinoma, micropapillary predominant (ALK-IHC&FISH positive)

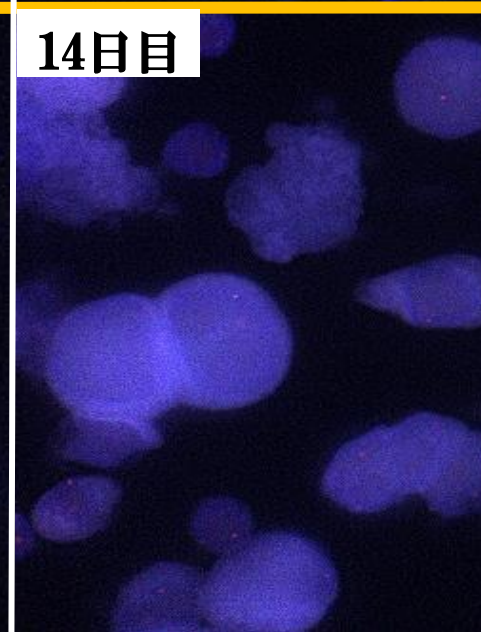
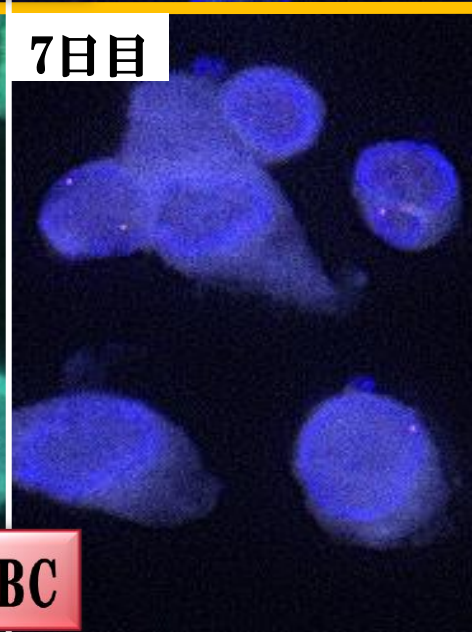
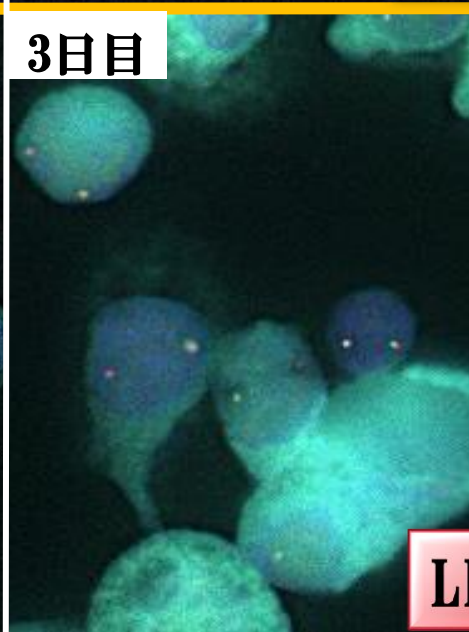
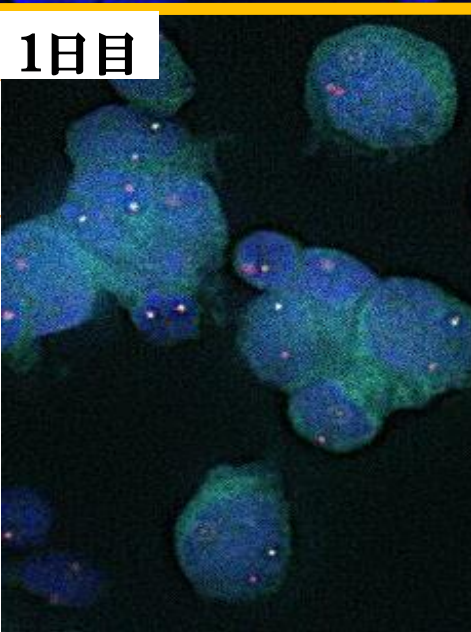


# 結果

## ②ALK-FISH法



組織



LBC



# ALK融合遺伝子陽性肺癌

- 非小細胞肺癌の約3~5%に認められ、大部分が腺癌
- 非喫煙・比較的若い女性に多い

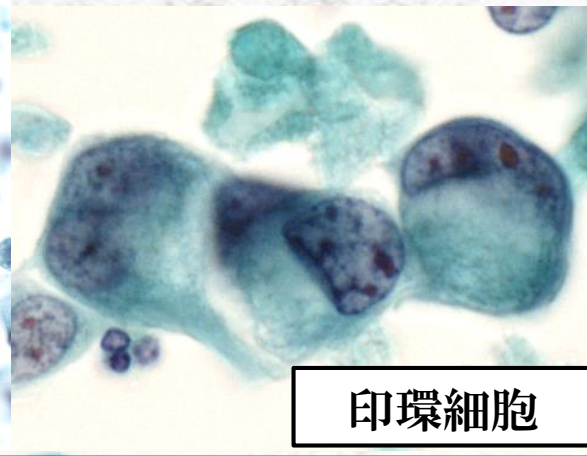
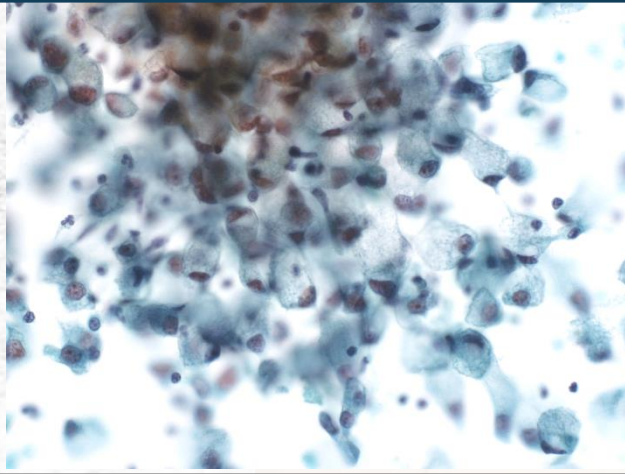
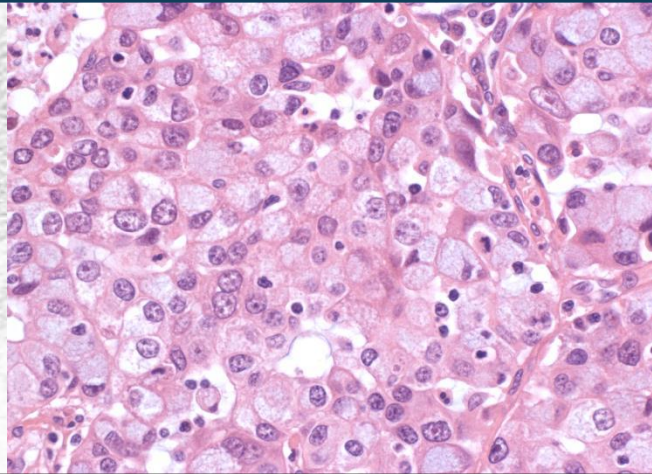
## 組織像

- 篩状・管状
- 充実状
- 印環細胞
- 細胞外粘液

## 細胞像

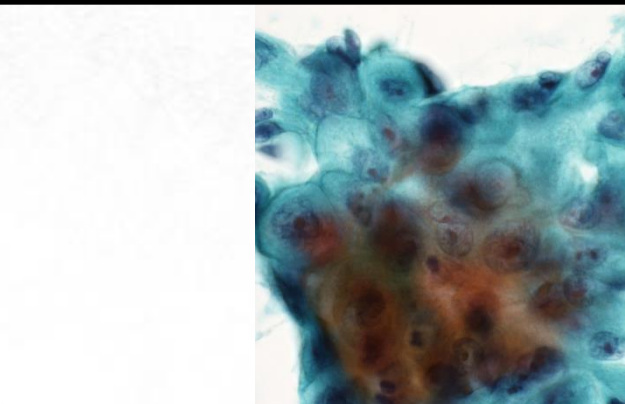
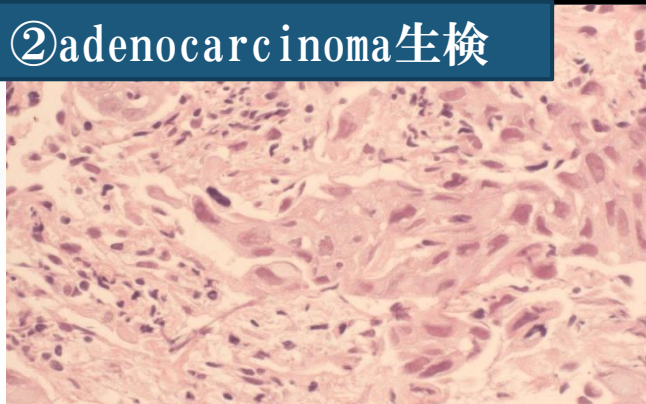
- 核の立体不整
- 明瞭な核小体
- 細胞質内粘液（印環細胞）
- 石灰小体

①Solid predominant with mucin production / 細胞質内粘液 (印環細胞)



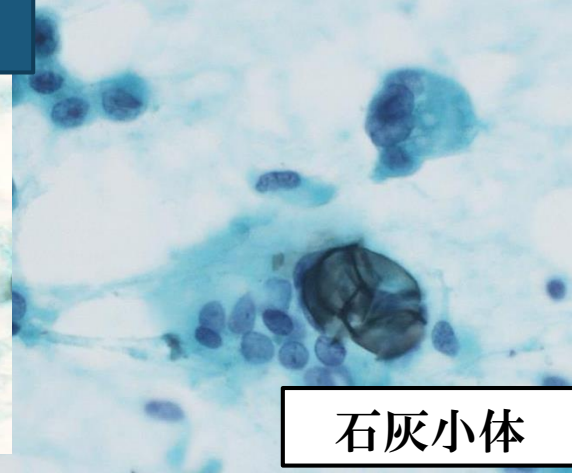
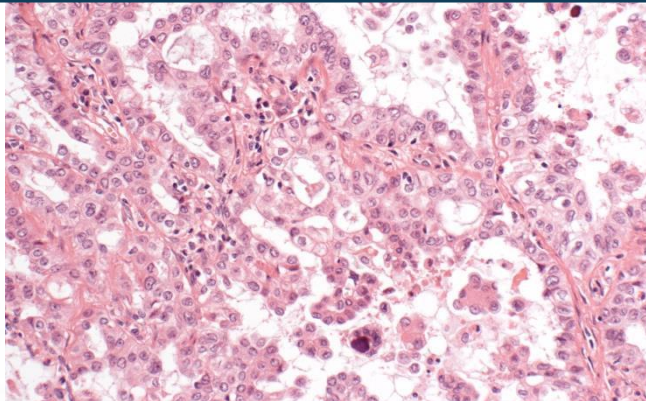
印環細胞

②adenocarcinoma生検



核小体・  
核の不整

③Micropapillary predominant / 細胞外粘液産生・石灰小体



石灰小体



# 検体の取扱いのポイント

**いかに細胞を集め、効率的に利用するか**

①LBC検体採取時のブラシの洗い方

②ブラシカテーター内の洗浄

③アルゴリズムを用いた的確かつ迅速な残検体の利用

# まとめ

- 呼吸器領域では細胞診が唯一の病理検体であることが少なからずあり、その果たす役割は大きい
- より効率的に検体を利用し、的確かつ迅速に診断できるように工夫すべきであり、呼吸器領域においてもLBC法は有用である