

当センターにおける セルブロック作製の検討

(株)秋田病理組織細胞診研究センター
石井 祥子,金子 翔、阿部一之助



はじめに

- セルブロック法とは、細胞標本作製後に残存した細胞を収集し、パラフィン包埋を行い組織ブロック標本作製する方法である。セルブロックを薄切することで、組織学的に細胞の観察ができ、免疫組織化学染色や遺伝子検査等に応用可能である。現在、多様なセルブロック作製方法が知られ、細胞診断の補助として併用されている。

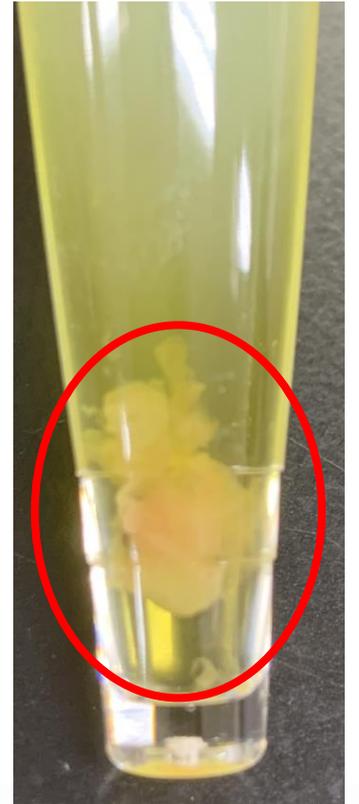
今回、当センターで行っているセルブロック作製方法と、効率的な細胞収集法について検討したので紹介する。



セルブロック作製法（フィブリン塊）

液状検体中に含まれるフィブリン塊の作製法

- 1.析出したフィブリン塊を15%ホルマリン固定（数時間）
- 2.遠心し、上清を捨てる
- 3.集塊を濾紙で上下を挟んだ状態でカセットに入れ、100%アルコールで固定後、パラフィン浸透装置へ
- 4.病理組織検体同様、包埋する



セルブロック作製法（大型細胞集塊）

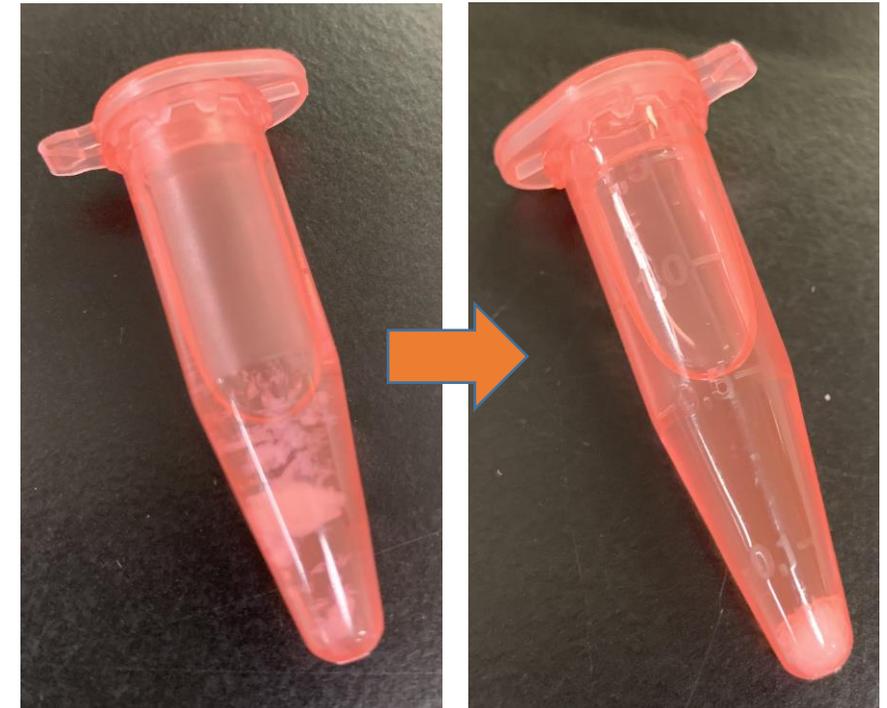
スライド上の細胞集塊を剥ぎ取り作製

- 1.スライド上の厚く塗抹された細胞集塊をピンセット等で静かに剥ぎ取り、15%ホルマリン固定（数時間）
- 2.集塊を濾紙で上下を挟んだ状態でカセットに入れ、100%アルコールで固定後、パラフィン浸透装置へ
- 3.病理組織検体同様、包埋する



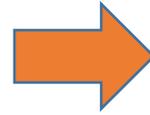
セルブロック作製法（細胞沈査）

1	遠心	2500rpm、5min	
2	固定	数時間	15%ホルマリン
3	遠心	2500rpm、5min	
4	細胞沈査をマイクロチューブへ移し替える		
5	遠心	2500rpm、5min	100%アルコール
6	遠心	2500rpm、5min	100%アルコール
7	遠心	2500rpm、5min	キシレン
8	遠心	2500rpm、5min	キシレン
9	液状パラフィンを分注		
10	マイクロチューブを立てた状態のまま 70°Cのフラン機の中で一晩静置		
11	フラン器の中からマイクロチューブを取り出し 室内（または冷蔵庫）にてパラフィンを冷やす		



遠心

セルブロック作製法(細胞沈査標本作製)



マイクロチューブを切断

細胞沈査が取り込まれている
パラフィン塊を取り出し、
対面の状態で包埋



2018年度セルブロック作製件数

76 / 76785件(約0.1%)

内訳

乳腺	内膜	体腔液	その他
4	17	39	16



当センターのセルブロック作製方法について

<大型集塊>

- 採取した細胞の消失がみられる

(原因) パラフィン浸透装置内でブロックから細胞が流出してしまう

<細胞沈査>

- 細胞沈査量が少ない検体ではブロック作製困難なことがある
- 手技に手間がかかる
- マイクロチューブを切断する際に刃物を使う為、怪我のリスクがある



新しい方法

- 大型細胞集塊

- 1) フィブリン塊から作製または沈査量が多い場合→寒天法

- 2) スライド上の細胞集塊を剥ぎ取り作製する場合

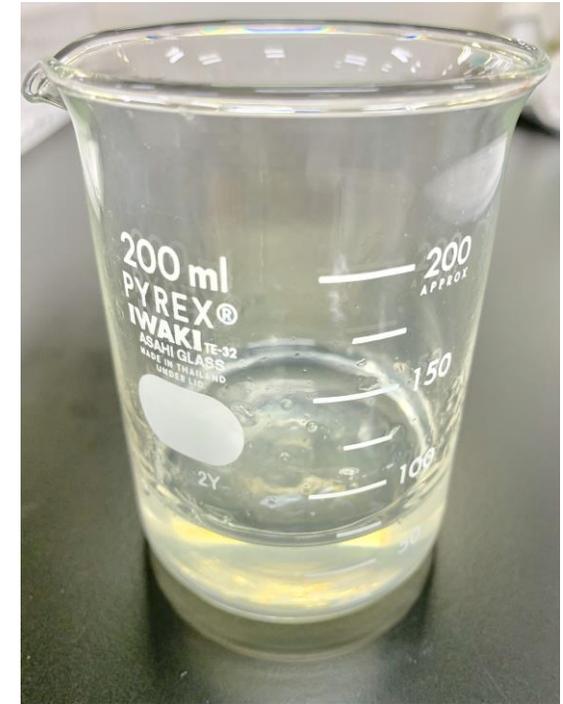
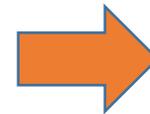
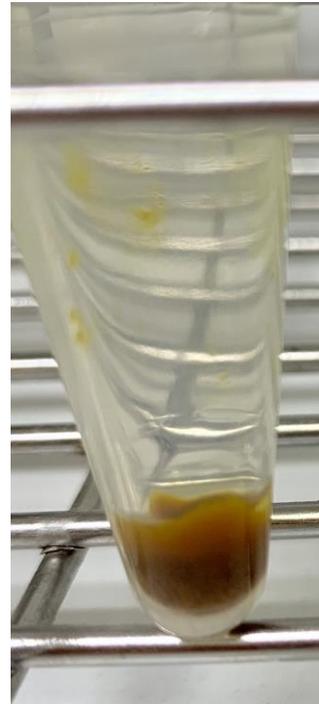
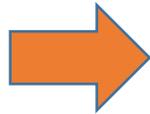
剥がした細胞を包埋皿へ直接入れる→簡略法

- 細胞沈査

沈査量が少ない場合→コンパウンド法



寒天法



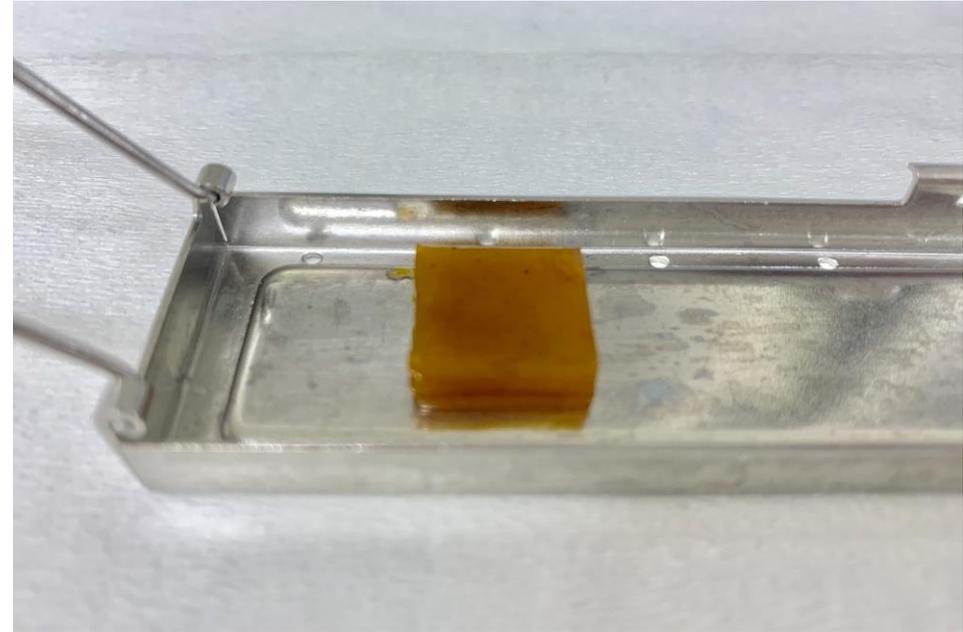
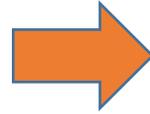
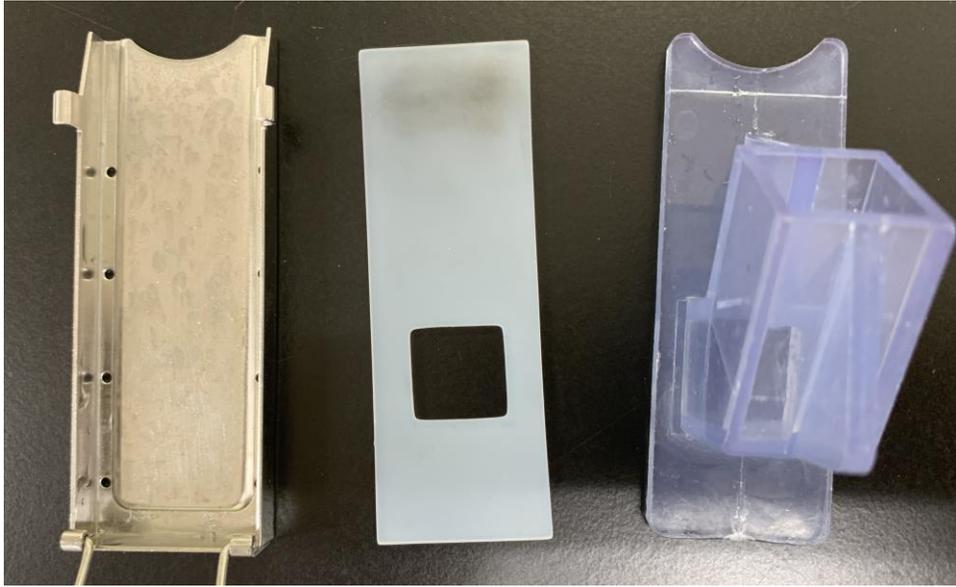
1. 固定
細胞固定液で
30分固定する。

2. 遠心
2500rpm、5min
上清を捨てる。

3. 1%寒天溶液
を作成する。
電子レンジで
30秒程温める。



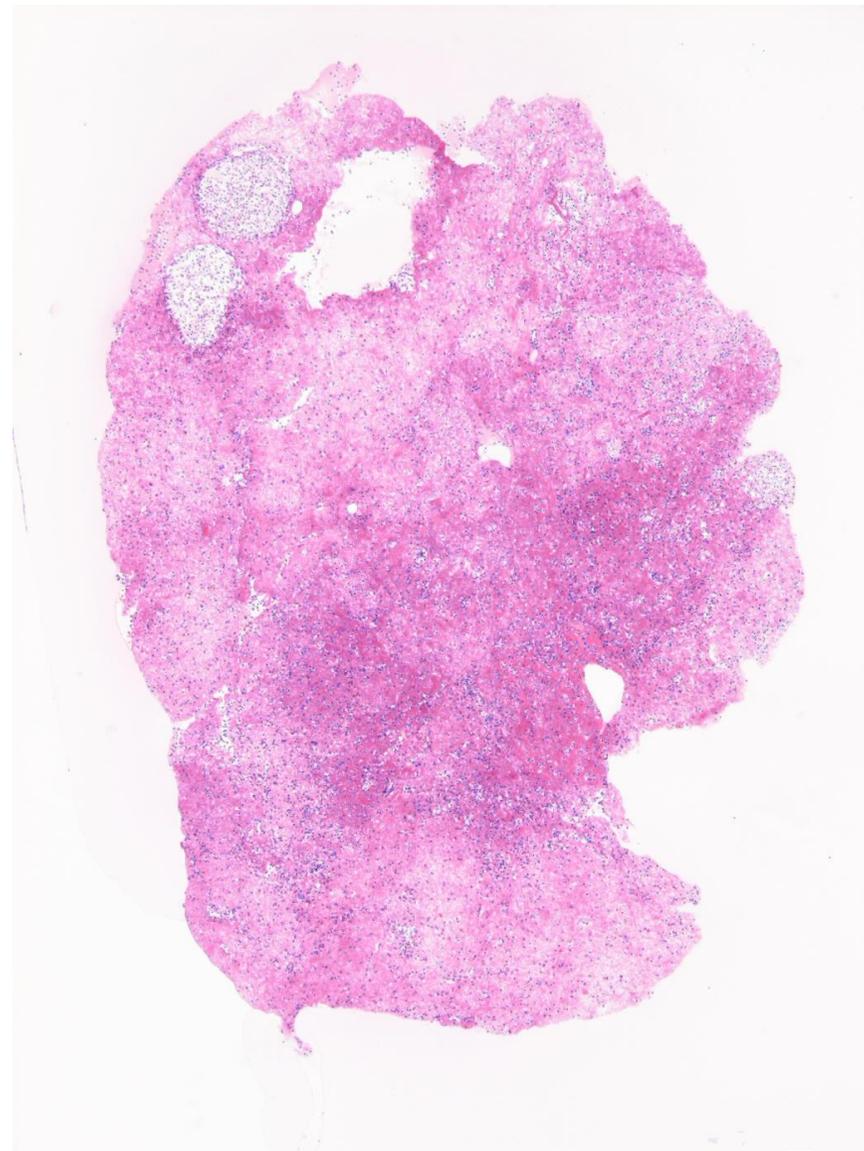
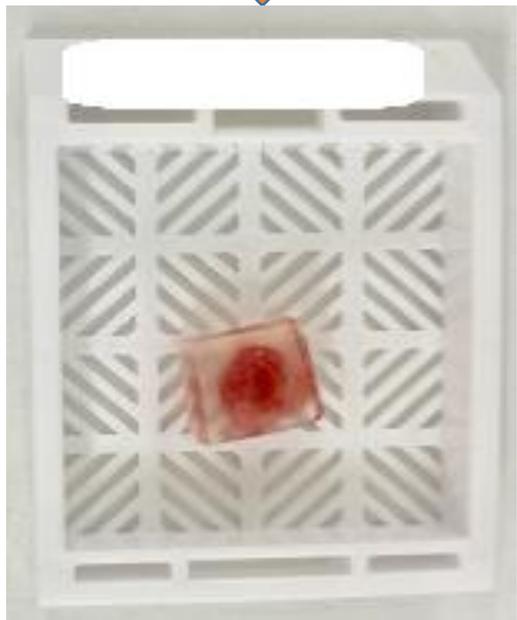
寒天法



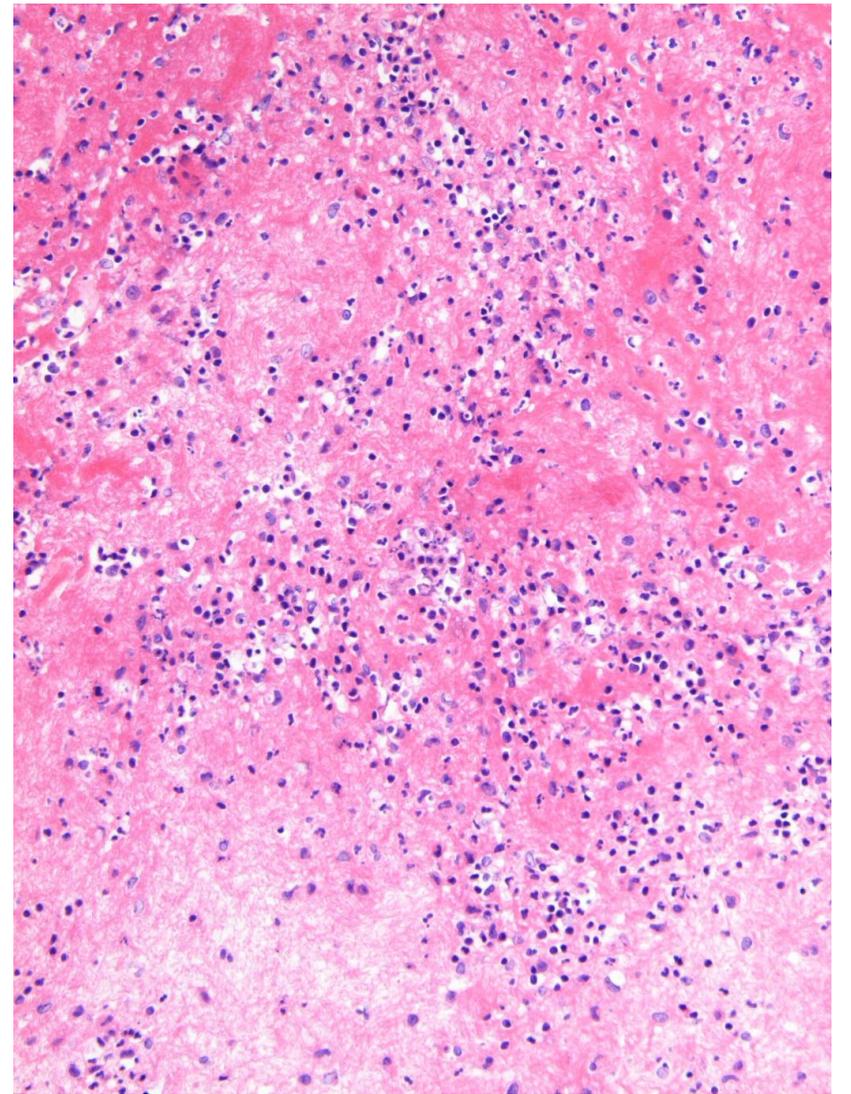
4. オートスメアチャンバー
に細胞沈査と1%寒天溶液を
0.8ml入れ遠心する。
2000rpm、5min

5. 固まった寒天をカセット
へ入れ、パラフィン浸透装
置へ。



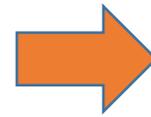
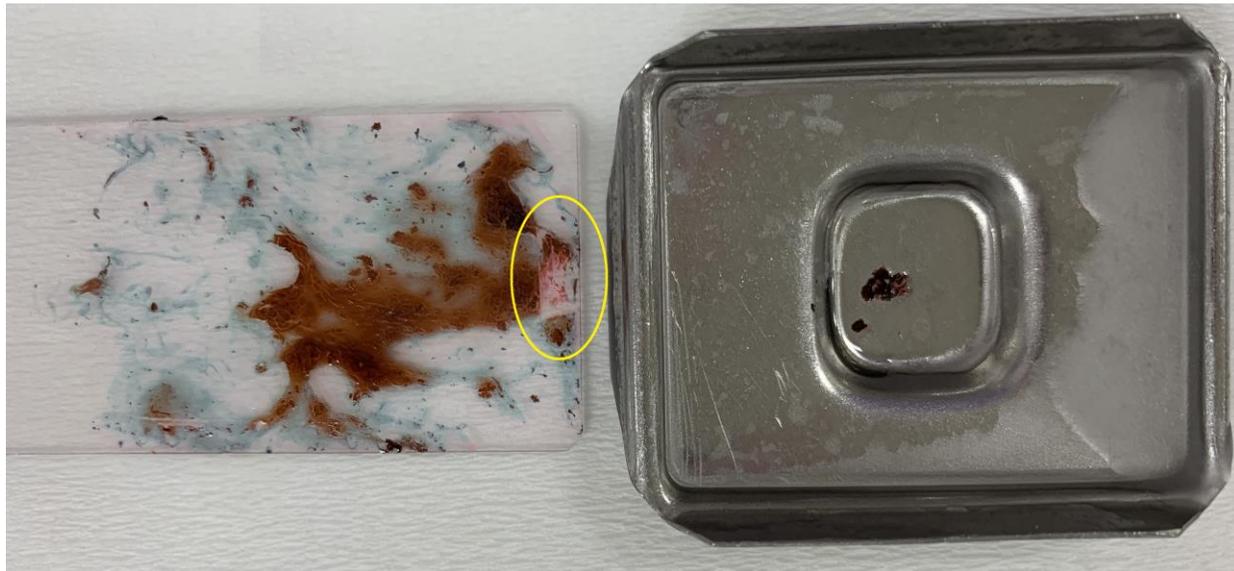


4x



20x

スライド上の細胞集塊（簡略法）



1. スライド上の厚く塗抹された細胞集塊をピンセット等で静かに剥ぎ取り、包埋皿へ

2. パラフィンを包埋皿に静かに入れ、一晩静置する

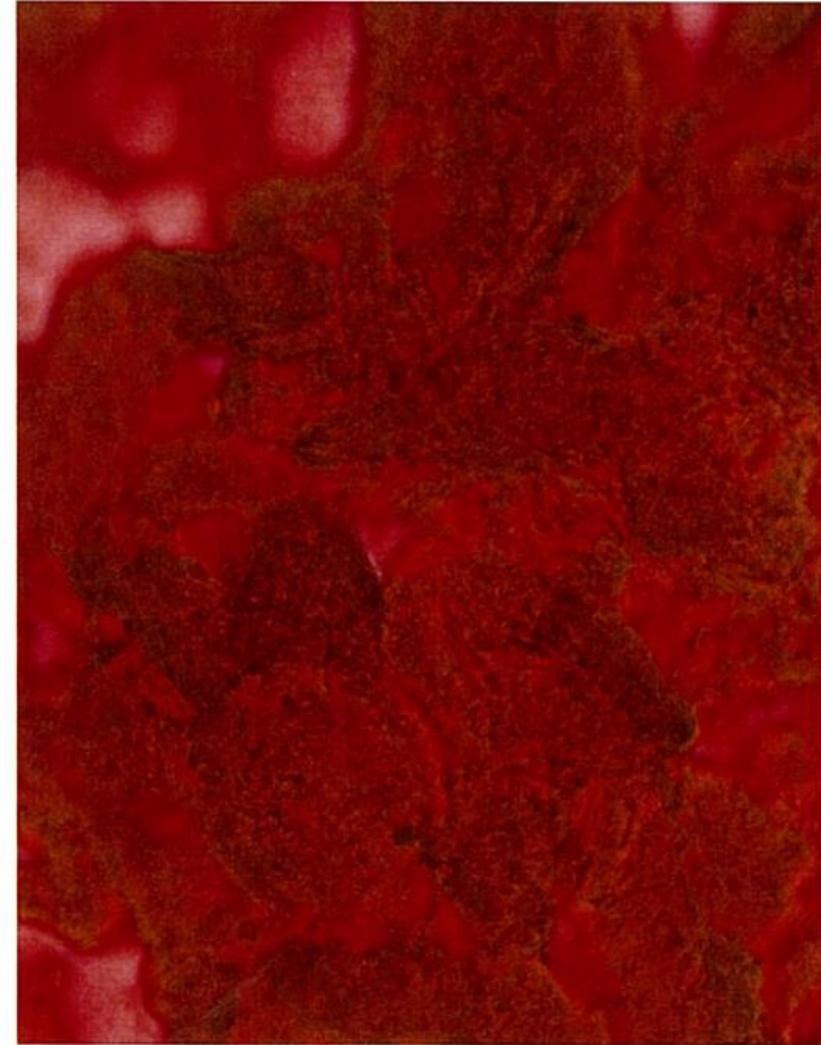


判 定	ベセスダ			推定病変 See description
	日母分類	class III	疑陽性	

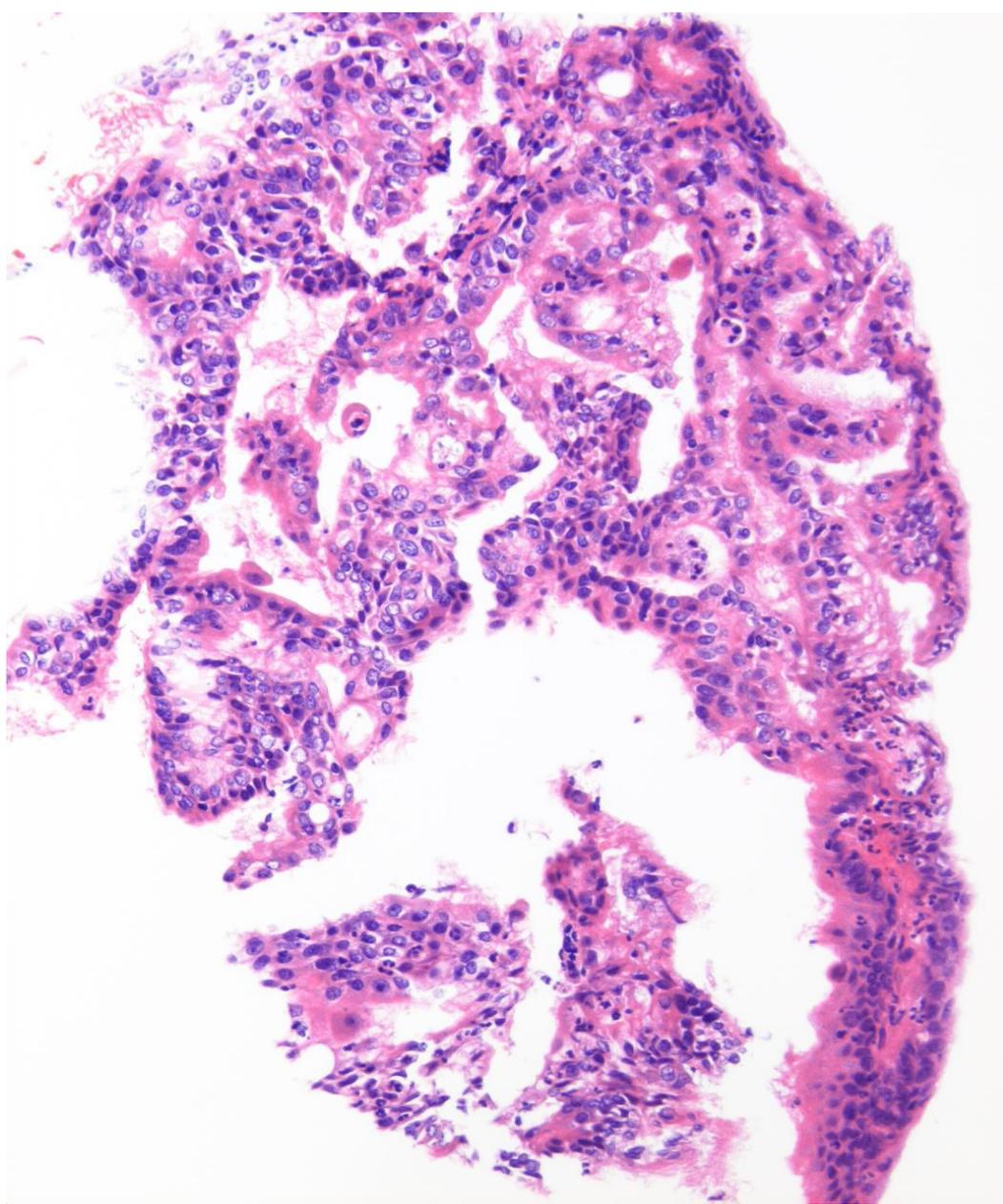
細胞学的所見

=適正検体です=

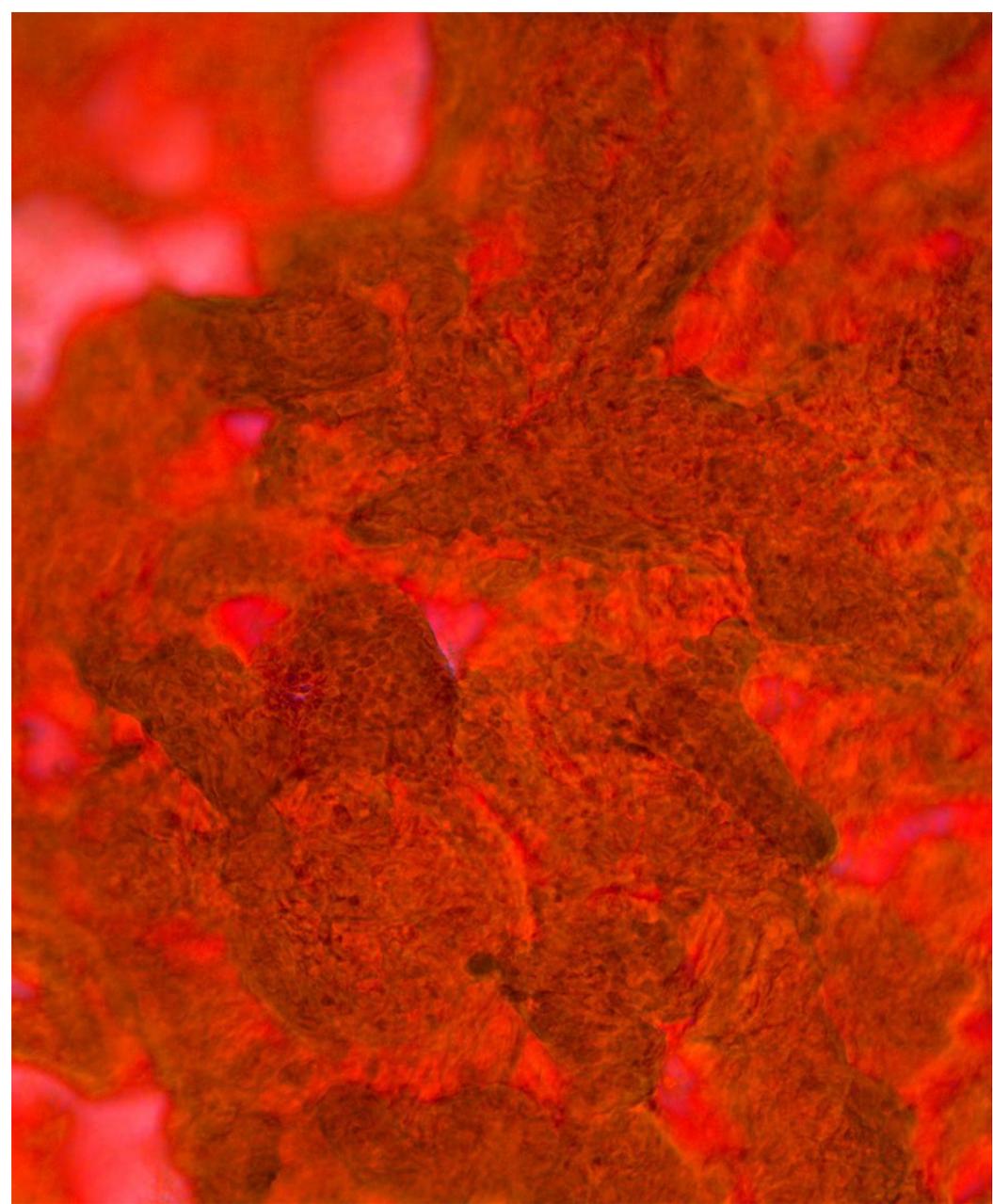
標本上に、腺系の異型細胞の集塊を数カ所に散見します（はっきりしませんが、頸部由来の腺細胞と思われます）。前回同様で今回も細胞異型はさほど強くありませんが、軽度核腫大および軽度のクロマチンの増量をみます（写真）。背景には好中球を中心とする炎症性細胞が増量しており、反応性の可能性もありますが、腫瘍性病変由来を否定できませんでした。引き続き follow-up をお願いいたします。



細胞分類	扁平上皮細胞	+	赤血球	_____	カンジダ	_____
	表層細胞	_____	% 好中球	+	トリコモナス	_____
	中層細胞	_____	% リンパ球	+	球 菌	_____
	傍基底細胞	_____	% 組織球	+	桿 菌	_____
	頸管内膜上皮細胞	+	好酸球	_____	真 菌	_____
	体部内膜上皮細胞	++	多核巨細胞	_____	その他 ()	_____

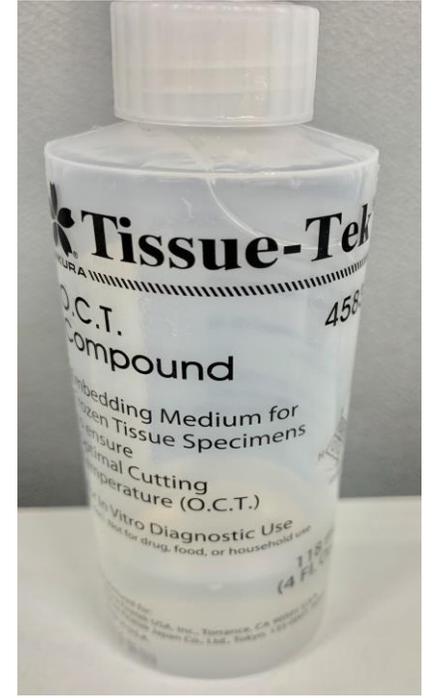
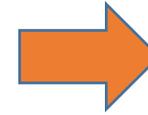
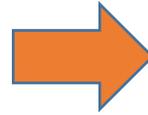
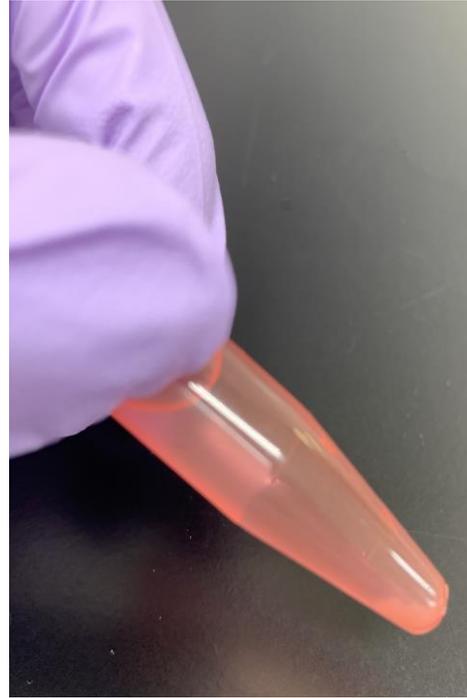
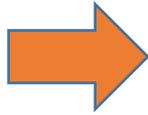


HE セルブロック



パニコロウ染色

コンパウンド法



1. 固定
細胞固定液で
30分固定する。

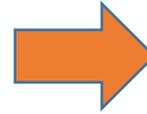
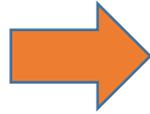
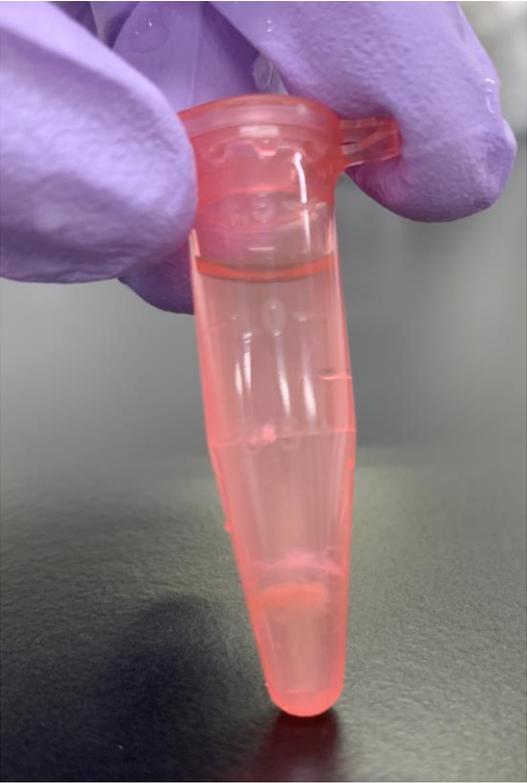
2. 脱水
100%アルコール
を加えて攪拌後、
遠心する。

3. アルコール
を捨て、1分程
放置する。

4. コンパウンドを
1滴、滴下し
攪拌後、遠心する。



コンパウンド法



5. 100%アルコールを重層する。

6. 白色物質が出現し、管壁から容易に離れるまで放置する。

7. ピンセットで取り出しカセットに入れ、パラフィン浸透装置へ。

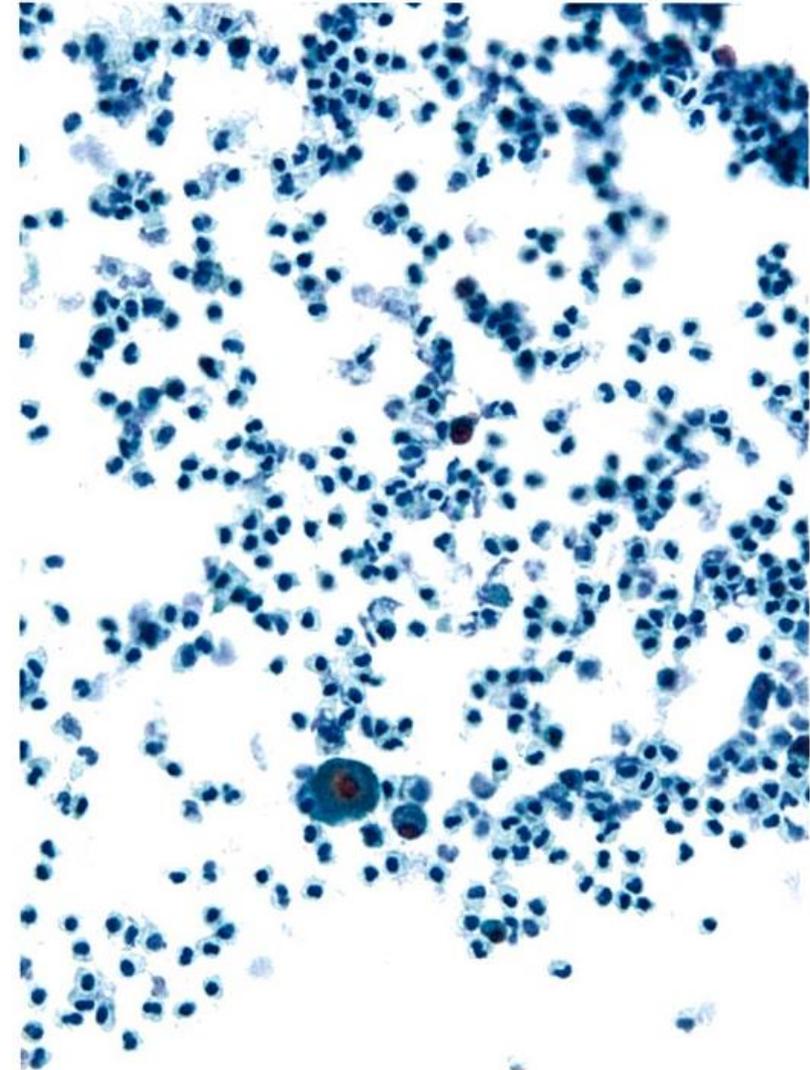


判 定	Class	Ⅱ	推定病変 Negative for malignancy
		陰性	

細胞学的所見

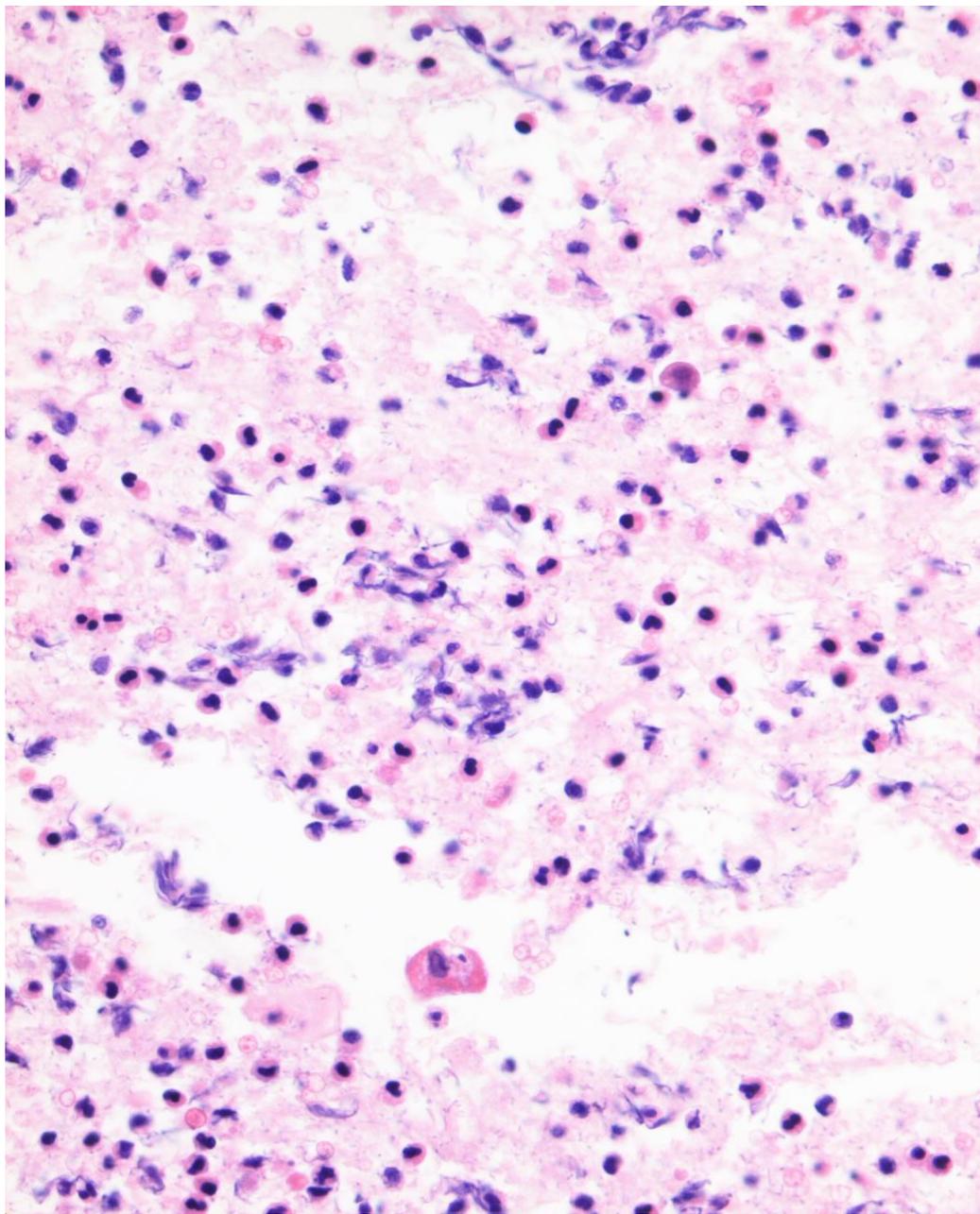
*肉眼的血尿でしたので溶血してから鏡検しました。

標本背景に好中球を中心とする炎症性細胞が増量しています(写真)。扁平上皮細胞と尿路上皮細胞を散在性に認めますが、異型細胞は認めません。ほかに桿菌を認めます。

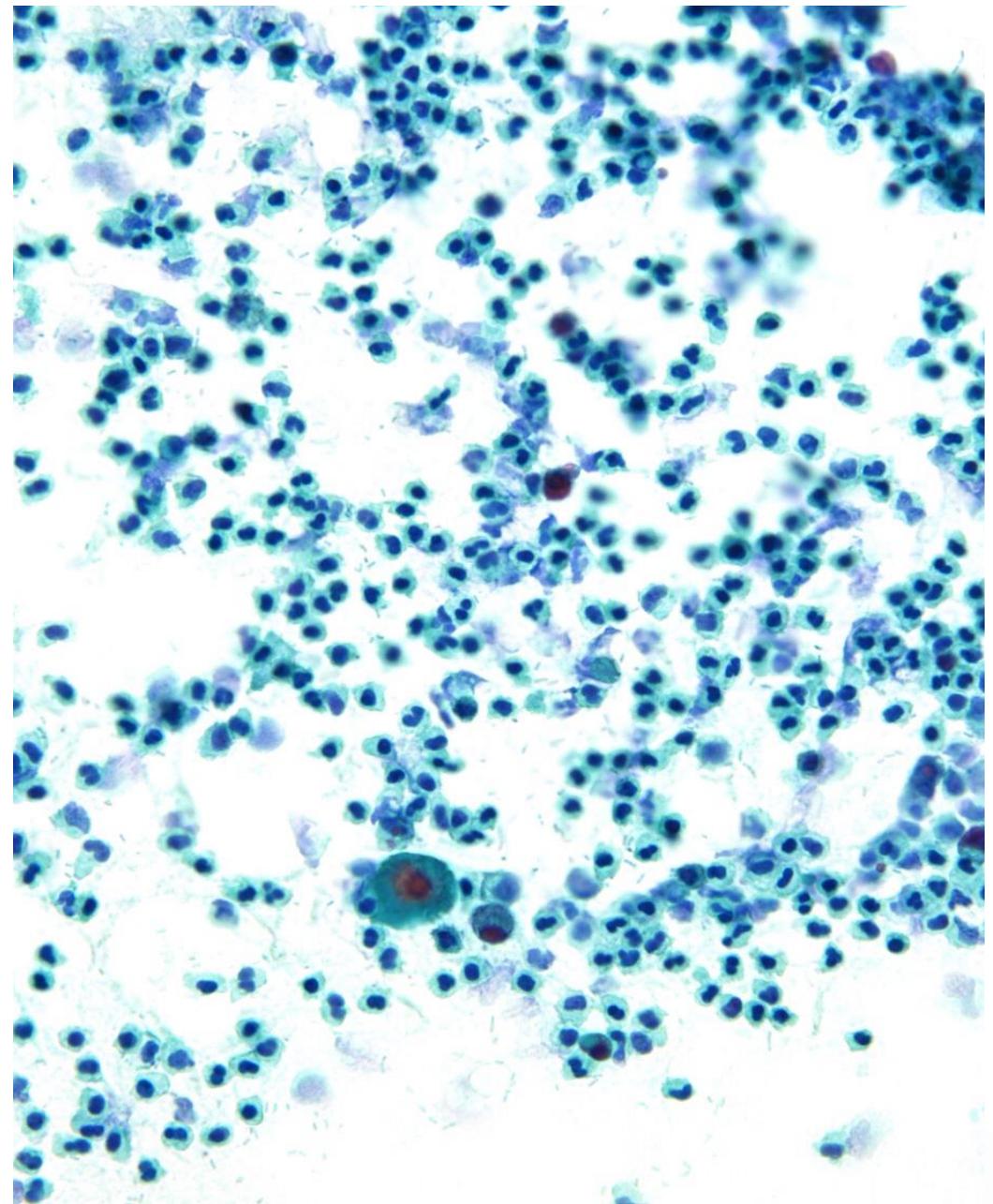


細胞分類	扁平上皮細胞	+	赤血球	+++	カンジダ	—
	円柱上皮細胞	—	好中球	++	結晶	—
	線毛円柱細胞	—	リンパ球	+	球菌	—
	杯細胞	—	組織球	+	桿菌	+
	尿路(移行)上皮細胞	+	好酸球	—	真菌	—
	中皮細胞	—	形質細胞	—	その他()	—





HE セルブロック



パニコロウ染色

まとめ

現在セルブロック法は細胞診断において重要な位置づけになっております。

- ・当センターでは開業以来15年間セルブロックによる補助的診断を行ってきた。現状の多くのセルブロック法が新たに開発されていることから、我々も今回検討を行った。寒天法、コンパウンド法によって手技が簡便で細胞流失を抑えることができ、現状に比べ有効なことを確認できた。
- ・セルブロック作製において、細胞沈査量によって作製方法を選択する必要があると考える。
- ・1つ1つの細胞を大切にし、今まで以上の精度向上に努めていきたいと考えている。

