

膵 EUS-FNA cytology における Liquid Based Cytology (LBC) の導入

国立病院機構函館病院 臨床検査科 ○東 学・赤川 まい
森山 貴史・星 直樹
消化器科 久保 公利
病理診断科 木村 伯子
外科 大原 正範

【要旨】

近年、超音波内視鏡下穿刺吸引法 (Endoscopic ultrasonography guided fine needle aspiration: EUS-FNA) の普及に伴い、積極的な膵病変からの組織採取が行われるようになった。これを契機に、各施設において様々に工夫された方法による On-site cytology が行われている。当院では、Liquid based cytology (LBC) 法を活用したベッドサイドでの標本作製法を導入し、2019年4月から2020年3月末までに実施した膵 EUS-FNA 施行 18 症例について後方視的に診断成績を検証した。その結果、細胞診での診断感度は 94% で、病理診断との診断一致率は 89% であった。LBC 法を活用した On-site cytology の導入により迅速細胞診 (Rapid On-site Evaluation: ROSE) を実施せずとも良好な診断成績を得ることができ、さらに検査時間の短縮もはかることが可能となった。

【キーワード】: 膵臓腫瘍、超音波内視鏡下穿刺吸引法、On-site cytology、液状化細胞診、サイトリッチレッド

【はじめに】

近年、超音波内視鏡下穿刺吸引法 (Endoscopic ultrasonography guided fine needle aspiration: EUS-FNA) の普及に伴い、多くの施設で積極的な膵病変からの組織採取が行われるようになった¹⁾²⁾。これを契機に診断精度の向上を目的とした On-site cytology が導入され、ベッドサイドにおける様々な標本作製法の工夫や、その有用性についての報告がなされている^{2)~6)}。

当院では、2014年4月より2020年3月末までに83症例の EUS-FNA を実施し、この間細胞診標本作製法の工夫を重ねてきた。今回は、現在当院で実践している Liquid based cytology (LBC) 法を活用した標本作製法と診断成績を示し、その有用性を報告する。

【対象】

2019年4月から2020年3月末日までに、同一の細胞検査士により On-site による検体処理を行い、診断確定した膵 EUS-FNA 施行 18 症例について後方視的に診断成績を検証した。

【標本作製方法】

臨床担当医は、エコーガイド内視鏡下で 22G 針による穿刺を繰り返して検体を採取する。細胞検査士は、その状況を確認しながら、平置きシャウカステン、細胞診用固定液、塗抹用ガラス、ピンセットなどを準備してベッドサイドで待機をする (図 1)。検体採取後、下

方からシャウカステンにより透過光をあてたシャーレ上に、担当看護師がスタイレットを挿入し、穿刺針内の採取組織を吐出する。すぐに①吐出血液成分の塗抹標本または②微小白色組織片の圧搾標本に加え、Becton Dickinson and Company (B. D) 社の LBC 用固定液 CytoRichTMRED[®] (CR) を十分量添加し、③採取組織洗浄液および④生理食塩水による穿刺針内洗浄液の 4 種の細胞診標本を作製し診断を行う。

ベッドサイドでの迅速細胞診 (Rapid On-site Evaluation: ROSE) は実施していない。

【結果】

対象 18 症例中 16 例が浸潤性膵管癌で、その他神経内分泌腫瘍 (Neuroendocrine tumor: NET) 1 例、膵管内乳頭粘液性腺腫 (Intraductal papillary mucinous adenoma: IPMA) が 1 例あった。これらのうち、細胞診で悪性とした症例は 15 例で、異型細胞と悪性疑いとしたなかにも、それぞれ NET と IPMA が 1 例ずつ含まれている。また、強い出血による溶血不完全により細胞診で陰性とした症例が 1 例あった。組織診断では全例において検体不適正症例はなく確定診断を得ている。細胞診での診断感度は 94% で、病理診断と細胞診断の診断一致率は、89% であった (図 2)。

【考察】

EUS-FNA において内視鏡術者が検体採取に専念す

る傍ら、細胞検査士が積極的にベッドサイドへ出向き、診断に適正な検体の肉眼的判断あるいはROSEによる採取検体の質的判定を行い、組織検体の確保と細胞診標本作製することにより診断精度が向上する²⁾⁵⁾⁶⁾。そのため、現場における標本作製法については、各施設で様々な工夫された方法が行われている²⁾⁶⁾。

当院で採用しているB.D社のLBC用固定液CRは、血液成分を多く含む臍EUS-FNA検体において、その強い溶血作用により細胞成分豊富な白色組織片の肉眼的観察を容易とさせる。また、血液成分中や組織表面の目的細胞を効率よく固定液内に回収するため、診断に有効な細胞成分を多く得ることができる⁷⁾⁸⁾⁹⁾。加えて、液状化細胞診の導入により乾燥による診断標本のアーチファクトを回避することができ、再現性の高い細胞診標本を得ることが可能である(図3)。

非婦人科検体に対するLBC法による細胞診標本作製法については、これまで多くの検証結果が報告されており⁷⁾¹⁰⁾、なかでも穿刺吸引細胞診時の塗抹標本に加えて穿刺針洗浄液標本や、採取組織表面細胞のふるい落とし洗浄(組織洗浄液)標本作製することは診断精度を高めるうえで有用とされている⁸⁾⁹⁾。今回の対象症例においても、塗抹標本と穿刺針洗浄液及び組織洗浄液中の異型細胞視野数をカウントして比較すると、塗抹標本のみでは細胞量に乏しく診断が困難であった症例においても、針洗浄液及び組織洗浄液のLBC標本中には多くの細胞が確保され、対象18症例全例において不適性検体はなかった(図4)。しかし、出血が強かった1例については、ベッドサイドにおける検体処理により溶血作用が不完全となり、さらに多数の炎症細胞に異型細胞がマスクされたことによって陰性判定となり、今後標本作製上の注意が必要である。

本来、On-siteにおけるROSEは患者の組織採取時の侵襲性を考慮し、診断材料に有効な組織あるいは細胞成分が十分量採取されているかどうかを判定するために行われるものである。しかしながら、現場での細胞診断を優先的に行うため、良質な検体を十分量サンプリングすることにより、後の組織診断に支障をきたす場合も少なくない。また、当院のような細胞検査士が1名しか居ない施設では、検査時に十分な対応ができない場合が生じる。

当院では、細胞診と組織診断の両者により最終診断を得ることを目的としており、出来るだけ組織診断による十分な検証が可能となるよう、組織検体を確保することを最優先とし細胞診標本作製を行なっている。また、LBC標本作製後の残検体も廃棄することなく保管し、診断確定後の将来的なゲノム検査などの追加検証にも対応できるよう準備を整えている。

現在当院においては、臍EUS-FNAの検査手技が確立さ

れた事と、LBC法による標本作製法の工夫により、ROSEを実施せずとも多くの症例で確定診断を得ることが可能となり、細胞検査士や細胞診専門医のスケジュール確保も不要で、検査時間の短縮化も図る事が可能となった。

また、本検査法は筆者が国立病院機構北海道がんセンター勤務時に採用されていた方法であるが、特別な機材を必要とせず操作も簡便であることから、施設を変えても導入が容易であった。

【結語】

当院における臍EUS-FNA細胞診の実際を報告した。LBC法を活用したOn-site cytologyの導入により、診断精度の向上と検査時間の短縮が期待できる。

【参考文献】

- 1) Vilmann P, Jacobsen GK, Henriksen FW, et al. Endoscopic ultrasonography with guided fine needle aspiration biopsy in pancreatic disease. *Gastrointestinal Endoscopy*, 1992;38:172-173.
- 2) 林 毅:「EUS-FNAの最新テクニックと迅速病理診断の実際」, *Gastroenterological Endoscopy*, 2015;57:54-65.
- 3) A. Koul, A. C. Baxi, R. Shang, et al: The efficacy of rapid on-site evaluation during endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration for pancreatic tumors. *Endoscopy Ultrasound*, 2016;5:225-232.
- 4) S. Hashimoto, H. Taguchi, M. Higashi, et al: Diagnostic efficacy of liquid-based cytology for solid pancreatic lesion samples obtained with endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration: propensity score matched analysis. *Dig Endosc.* 2017;29:608-616.
- 5) A. Furuhashi, H. Shirahase, H. Shirai, et al: Utility of rapid on-site cytology in endoscopic ultrasonography-guided fine needle aspiration of pancreatic masses. *Rinsho byori*;2016;60:429-434.
- 6) A. Mitoro, T. Nishikawa, M. Yoshida et al: Diagnostic efficacy of liquid-based cytology in Endoscopic Ultrasound-Guided Fine Needle Aspiration for Pancreatic Mass Lesions During. *Pancreas*. 2019;48:686-689.
- 7) 山城勝重, 平紀代美: B.D LBC Reference Book 体腔液編, 日本ベクトン・ディッキンソン 2011.
- 8) Yamashiro K, Taira K, Nakajima M et al: Tis

sue rinse liquid-based cytology : a feasible tool for the intraoperative pathological evaluation of sentinel lymph nodes in breast cancer patients. *Cytopathology* 2011;23:263-269.

- 9) 平紀代美：「1. 直接塗抹法・LBC法の標本作製技術の基本と形態学的差異」, *Medical Technology* ; 2014;42;666-673.

- 10) 東 学, 平紀代美, 中島真奈美ほか：「Liquid-Based Cytology (LBC)法の体腔液細胞診への応用-残検体の免疫細胞化学的活用について」 *日本臨床細胞学会北海道支部会報* 2008;17;19-23.

本論文内容に関連する著者の利益相反なし



図1. 膵EUS-FNA実施時の様子と標本作製器具

検体採取の様子(左)を確認しながら、平置きシャウカステン、細胞診用固定液、塗抹用ガラス、ピンセットなどを準備(右)してベットサイドで待機をする。

pancreatic lesion n=18		細胞診断			
		Negative	Atypical or Neoplastic	Suspicious	Malignant
病理診断	Negative	0	0	0	0
	Atypical or Neoplastic	0	0	0	0
	Suspicious	0	1	1	0
	Malignant	1	0	4	11

■ Ductal carcinoma : 16 . ■ NET: 1, IPMA: 1

図2. 当院における膵EUS-FNA診断成績(2019年4月~2020年3月実施18症例)

浸潤性膵管癌16例全例が病理診断で確定され、細胞診で15例が悪性疑いから悪性と診断した。細胞診で陰性とした1例は、多数の出血成分と炎症細胞により異型細胞量に乏しい症例であった。

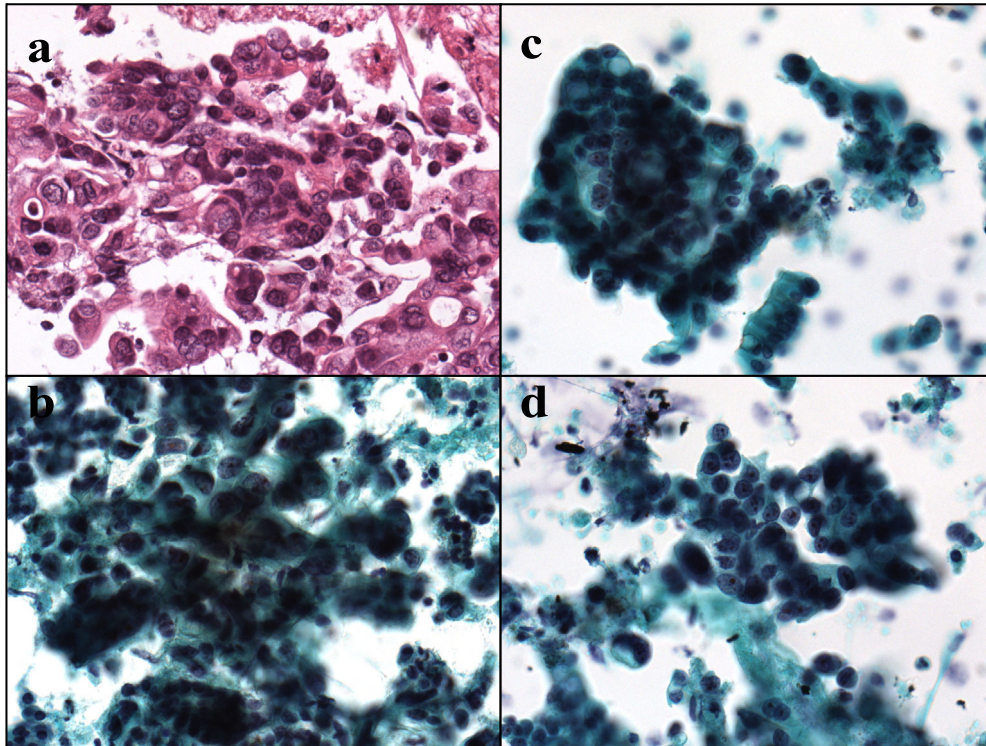


図3. 組織標本および細胞診標本顕微鏡像

図3a：組織H.E*標本（対物×20）、図3b：微小組織検体圧挫Pap**染色標本対物×40）、図3c：組織洗浄液Pap染色標本（対物×40）、図3d：穿刺針洗浄液Pap染色（対物×40）の各標本において乾燥変性のない良質な標本を得ている。（*H.E；Hematoxylin Eosin、**Pap；Papanicolaou）

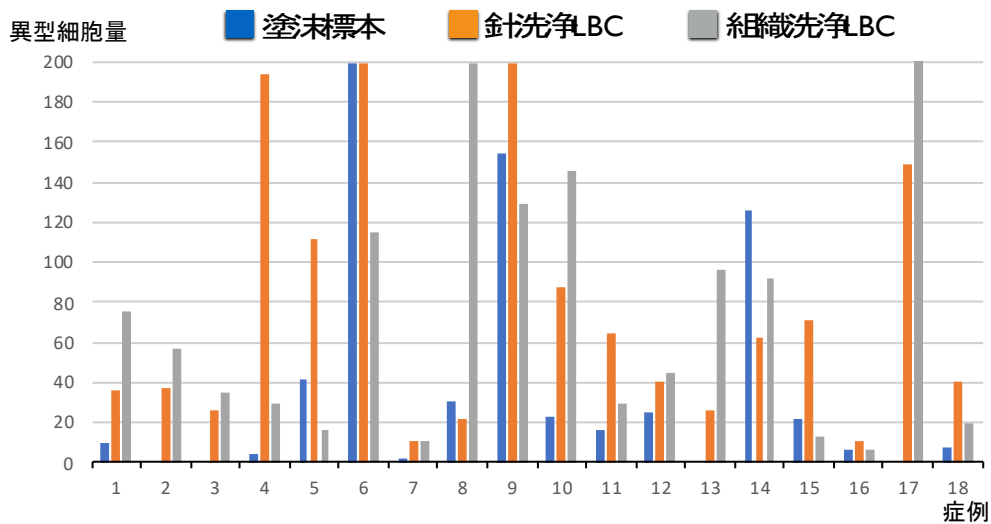


図4. 各細胞診標本における異型細胞量の比較

各標本上の異型細胞量を上限200視野としてカウントし対比した。塗沫標本(青)のみでは診断困難であった症例においても、針洗浄液(橙)、組織洗浄液(灰)では十分な細胞量を確保できている。