愛媛県立医療技術大学紀要
第21巻　第1号　P.7-12　2024

原　著（査読あり）

術中迅速細胞診における BDサイトリッチ™レッド保存液の応用 ー標本作製時間の短縮を目指してー

小田千寛*, 重松由美恵**, 近藤ゆめの*, 細川翔*,
入野了士***, 祇園由佳*, 岡村法宣*, 西川武****, 則松良明*

Application of BD CytoRich™ Red Preservative Solution in Intraoperative Rapid Cytology : Aiming to Reduce Specimen Preparation Time

Chihiro ODA*, Yumie SHIGEMATSU**, Yumeno KONDO*,
Sho HOSOKAWA*, Satoshi IRINO***, Yuka GION*,
Noritaka OKAMURA*, Takeshi NISHIKAWA****,
Yoshiaki NORIMATSU*

Abstract

Objective:This study aimed to reduce the preparation time for rapid cytology with the BD Cytorich™ Red preservation solution in the BD SurePath System.
Methods: The specimens included PC-9 cells, a lung cancer cell line, and mesothelial cells from the pleural and peritoneal lavage fluid of rats. Subsequently, LBC specimens were prepared under each condition, and the effects of fixation and smear times on the amount of cells smeared were investigated.
Results: In the "fixation-smear" process, it was found that the smear time greatly affected the number of cell smears, and the smear number of PC-9 cells was more than 70% relative to the recommended method when a smear time of 10 minutes was maintained. However, the smear number of PC-9 cells tended to be lower than that of the recommended method when the same smear time was used for rat body fluid. Conclusions: Using cultured cells, we have found a protocol that can be used in 21 minutes by omitting the centrifugation, decanting, and cell suspension with purified water, and shortening the fixation time. We will further investigate the application of this protocol to human body cavity lavage fluid.

Keywords：術中迅速細胞診, BDサイトリッチ™レッド保存液, 標本作製時間の短縮

序　　文

術中迅速診断において, 胸水, 腹水などの体腔液やその洗浄液においては, 細胞診検査が唯一の診断方法となる。その中でも, 体腔液やその洗浄液の術中迅速細胞診断（以下, 迅速細胞診）は現在, 保険収載され,「手術の途中において腹水及び胸水等の体腔液を検体として標本作製及び鏡検を完了した場合において, 1手術につき1回算定する（450点）」ことになっており[1], 術中に手術方針を決める非常に重要かつ責任重大な診断行為として認められている[2,3]。

迅速細胞診は, 手術中という限られた時間内に診断を求められるため, 検査側は迅速かつ正確な診断結果を報告することが重要であるが, その標本作製方法は, 採取された検体の種類, 量, 性状により遠心塗抹法（引きガラス法, すり合わせ法）, オートスメア法, フィルター法など様々な方法を用い, 採取細胞をスライドガラスに直接塗抹する方法（直接塗抹法）が選択されるため, 検体毎にある程度の統一性がありながらも, 施設により様々であるとともに, 細胞の見え方も異なっている[4,5]。

*愛媛県立医療技術大学大学院保健医療学研究科医療技術科学専攻　**重井医学研究所附属病院臨床検査科
***愛媛県立医療技術大学大学院保健医療学研究科看護学専攻　****天理大学医療学部臨床検査学科

一方，液状化検体細胞診（liquid−based cytology；LBC）法のひとつであるBDシュアパスシステム(シュアパス法)は採取された検体を細胞保存液による固定を行うことで，細胞を良好な状態で保持し，細胞剥離や乾燥を防ぎ，限定された範囲内への効率的な塗抹が可能である。非婦人科検体用の細胞保存液であるBDサイトリッチ™レッド（レッド）は溶血能力と蛋白凝集抑制作用を有し，体腔液検体にも利用が推奨されているため，迅速細胞診における利用が期待できる[6]。窪田ら[6]，兵頭ら[7]，は迅速細胞診における，シュアパス-LBC標本作製法の検討を行い，体腔洗浄液検体や肺穿刺吸引細胞診検体では，血液が混入するため，赤血球由来成分による細胞塗沫への影響が少ない細胞保存液であるレッドの使用が重要であると述べている。

そこで今回我々は，レッドを用いたシュアパス法での迅速細胞診において，標本作製時間の短縮を目的に，細胞の沈降時間と塗沫量の関連性を検証したので報告する。

方　　法

1.材料

細胞が均一に出現し，塗抹細胞の計数や個々の細胞観察が容易なヒト肺癌細胞由来の細胞株ＰＣ-９細胞(RCB4455，理化学研究所 バイオリソース研究センター)を使用した。培養細胞での検討結果より得られた標本作製条件は，ラットの体腔から回収した細胞を対象に，その適正を評価した。

なお，ラットを用いた本研究は，愛媛県立医療技術大学保健科学部動物実験委員会の承認(2024-010)を得て実施された。

2. 標本作製法および検討方法

1) 培養細胞

PC-9細胞は，RPMI（10%FBS含）を加えたフラスコ内にて，37℃，CO2濃度5%の条件下で培養し，10×10^{7}個/mLになるようRPMIで懸濁したものを細胞浮遊液とした。

シュアパス-LBC標本作製工程は，「検体からの細胞収集(遠心・上清破棄)，細胞固定，遠心，上清破棄・加水，遠心，上清破棄・細胞浮遊，塗抹，95%アルコール洗浄，後固定（95%アルコール），パパニコロウ(Pap)染色，脱水・透徹・封入」である。

標本作製時間の短縮を目的とした場合，遠心から上清破棄・細胞浮遊までの工程を省き，加えて，95%アルコール洗浄と後固定（95%アルコール）を合わせて後固定として行うこととし，「検体からの細胞収集(遠心・上清破棄)，細胞固定，塗抹，後固定，Pap染色，脱水・透徹・封入」とすることで，かなりの時間短縮が可能であると思われた。

以下に迅速細胞診標本作製工程と検討方法を示す（表1）。

(1)細胞固定:レッド1mLにPC-9細胞浮遊液を10μL添加し，よく混和し，一定時間（1分・5分・10分），細胞固定を行う。

(2)塗抹:セトリングチャンバーを装着した1枚のプレコートスライドを用意し，細胞浮遊液300μLを分注し，一定時間（1分・5分・10分），静置（重力沈降）する。

(3)後固定:上清を除去し，95%エタノールで2回（1分間），洗浄・固定する。

(4)プレコートスライドからセトリングチャンバーを取り外し，迅速Pap染色[4,5]および，脱水・透徹・封入を行う。

なお，対照としてBD社推奨の非婦人科検体の標本作製法(推奨法)を実施した。

表1　迅速細胞診標本作製工程と検討方法

	推奨法	サイトリッチ・レッド		
①細胞固定	細胞浮遊液10μ Lを固定液1mLに混和			
	10分	1分	5分	10分
②遠心	10分	なし		
③上清破棄・加水	1分	なし		
④遠心	5分	なし		
⑤上清破棄・加水	1分	なし		
⑥塗抹(300 μ L)	10分	1分	5分	10分
⑦アルコール洗浄	1分	1分		
⑧後固定	5分			
合計処理時間	43 分	3分～21分		
⑨,⑩染色/脱水/透徹/封入	ドーゼ内で実施 約5分/1枚			

推奨法（対照法）を含め，レッドによる検討は，細胞の固定時間（1分･5分･10分）および塗抹時間（1分･5分･10分）での10通りの標本作製工程による細胞塗沫量の関連性を検討した。

迅速細胞診標本作製における検討の組み合わせは，対照の推奨法を含め，以下の10通りである。

①細胞固定(1分)-塗抹(1分)-後固定(1分):作製時間3分
②細胞固定(1分)-塗抹(5分)-後固定(1分):作製時間7分
③細胞固定(1分)-塗抹(10分)-後固定(1分):作製時間12分
④細胞固定(5分)-塗抹(1分)-後固定(1分):作製時間7分
⑤細胞固定(5分)-塗抹(5分)-後固定(1分):作製時間11分
⑥細胞固定(5分)-塗抹(10分)-後固定(1分):作製時間16分
⑦細胞固定(10分)-塗抹(1分)-後固定(1分):作製時間12分
⑧細胞固定(10分)-塗抹(5分)-後固定(1分):作製時間16分
⑨細胞固定(10分)-塗抹(10分)-後固定(1分):作製時間21分
⑩推奨法: 細胞固定(10分)-遠心(10分)-上清破棄・加水(1分)-
遠心(5分)-上清破棄・加水(1分)-塗抹(10分)-後固定(5分):
:作製時間42分

2) ラット体腔洗浄液

ラットの胸腔および腹腔において，生理食塩水25mLを少しずつ体腔にかけながら，歯ブラシで軽く擦過し，細胞を含む生理食塩水を回収した。次に，遠心(1500rpm，5分)にて，上清をデカントし，細胞沈渣を収集し，レッド1mLに細胞沈渣を10μL添加・混和した。以降，培養細胞を用いた検討により決定した迅速細胞診標本作製法を実施した。なお，同時に推奨法⑩でも標本作製を行い，比較対象とした。

3.解析方法

1)培養細胞

上記①～⑩の条件で作製された迅速細胞診標本について，1標本あたり5視野を無作為に選び，対物20倍で撮影した。次に，撮影した画像をパソコンに取り込み，画像解析ソフトImageJ/Fiji version 1.54f (NIH, USA)を用いて細胞数を計算し，1視野あたりの平均を塗抹細胞数として算出した[8]。

得られた結果について，細胞固定時間が同じ標本のグループおよび細胞塗抹時間が同じ標本のグループにて，それぞれのグループごとに細胞塗抹数の比較解析を行った。また，推奨法⑩における塗抹細胞数を100%とし，各標本作製法での塗抹細胞数の相対値を算出し，70%以上の塗抹細胞数を有するかどうかを評価した。その後，推奨法⑩との相対値が70%以上を満たした条件のうち，作製に要する時間が短時間でかつ，形態的な差異も認めないものを最も適した迅速細胞診標本作製条件に設定した。

2) ラット体腔液

作製された迅速細胞診標本について，1標本あたり10視野を無作為に選び，対物20倍で撮影した。次に，撮影した画像をパソコンに取り込み，画像解析ソフトImageJ/Fiji version 1.54f (NIH, USA)を用いて中皮細胞の塗抹数を計数し，1視野あたりの平均細胞塗抹数を算出し，細胞塗抹数の比較解析を行った[8]。加えて，推奨法⑩における塗抹細胞数を100%とし，各標本作製法での塗抹細胞数の相対値を算出し，70%以上の塗抹細胞数を有するかどうかを評価した。本検討は2回行われた。

4.統計学的解析

統計学的有意差の検討は，SPSS Statistics 28(日本アイ・ビー・エム株式会社)を用いた。PC-9細胞における細胞塗抹数の比較には，Kruskal-Wallis test(クラスカル・ウォリス検定)を行い，有意差を認めた場合にはDunn test(ダン検定)による多重比較を行った。また，ラットでの胸腔/腹腔洗浄液での細胞塗抹数の比較には，Mann–Whitney U test(マン・ホイットニーのU検定)による比較を行った。p値が0.05未満を統計的に有意とみなした。

結　　果

1) 細胞固定時間が同じ標本における塗抹細胞数の比較(表2)

細胞固定1分における塗抹細胞数(平均±SD)は，①30.6±5.2個，②106.2±13.3個，③154.8±26.7個で，3群間に有意差(p=0.002)を認めた。続く多重比較では，③が①よりも有意に高値(p=0.002)であった。細胞固定5分では，④39.6±5.3個，⑤109.4±12.0個，⑥171.0±6.7個で，3群間に有意差(p=0.002)を認めた。続く多重比較では，⑥は④よりも有意に高値(p=0.001)であった。細胞固定10分では，⑦36.8±8.1個，⑧120.8±13.9個，⑨183.0±5.9個で，3群間で有意差(p=0.002)を認めた。続く多重比較では，⑨は⑦よりも有意に高値(p=0.001)であった。推奨法⑩での塗抹細胞数は207.8±7.5個であり，⑨と比較したところ，有意に高値(p=0.008)を示した。なお，今回の検討において，⑩との間に細胞形態に違いは観察されなかった。

表2　細胞固定時間が同じ標本における塗抹細胞数の比較

標本作製法	細胞固定時間	塗抹細胞数(平均±SD)	相対値(%)	相対値70% 以上
①	1分	30.6 ±5.2	14. 7	なし
②		106.2 ±13.3	51.1	なし
③		154.8 ±26.7	74.5	あり
④	5分	39.6 ±5.3	19.1	なし
⑤		109.4 ±12.0	52.6	なし
⑥		171.0 ±6.7	82.3	あり
⑦	10分	36.8 ±8.1	17.7	なし
⑧		120.8 ±13.9	58.4	なし
⑨		183.0 ±5.9	88.4	あり
⑩推奨法	1 0分	207.8 ±7.5	100.0	

同一固定時間における塗抹細胞数の比較において，細胞固定1分では，標本作製法③が最も多く認められ，細胞固定5分では⑥が，細胞固定10分では⑨が最も多く見られた。

2)細胞塗抹時間が同じ標本における塗抹細胞数の比較(表2)

細胞塗抹時間1分における塗抹細胞数は，①30.6±5.2個，④39.6±5.3個，⑦36.8±8.1個で，3群間で有意差(p=0.690)を認めなかった。細胞塗抹時間5分では，②106.2±13.3個，⑤109.4±12.0個，⑧120.8±13.9個で，3群間で有意差(p=0.124)を認めなかった。細胞塗抹時間10分では，③154.8±26.7個，⑥171.0±6.7個，⑨183.0±5.9個で，3群間で有意な差(p=0.027)を認めた。続く多重比較では，⑨が③よりも有意に高値(p=0.032)であった。さらに，推奨法⑩に対する塗抹細胞数70%以上の相対値を有する標本作製法は，塗抹時間10分である，③(74.5%)，⑥(82.3%)，⑨

(88.4%)のみであった。

3) ラットでの胸腔/腹腔洗浄液を用いた標本作製での中皮細胞の塗抹数

中皮細胞の塗抹数について，1回目は③49.3±27.3，⑩76.5±35.1個であり，③は⑩と比較して，有意に低値(p=0.04)であった。2回目では，③45.3±24.2，⑩91.8±38.2個であり，③は⑩と比較して，有意に低値(p=0.003)であった。③の相対値について，1回目は64.4%，2回目は49.3%であり，1回目，2回目ともに，推奨法⑩に対する塗抹細胞数70%以上の相対値を認めなかった。

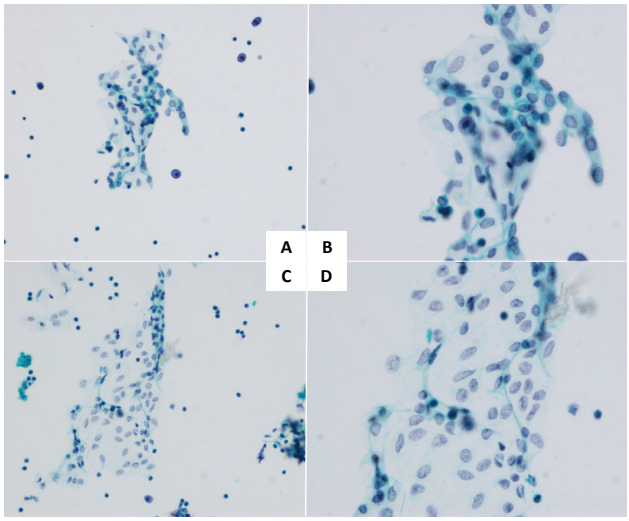

図1　ラットでの胸腔/腹腔洗浄液を用いた標本作製③での検討

(A,B) 標本作製法③では塗抹細胞数が83個であった。(C,D) 推奨法⑩(細胞固定10分-塗抹10分:作製時間42分)では塗抹細胞数が130個であった。(迅速Pap染色，対物レンズの倍率A,C:×20，B,D:×40)

考　　察

シュアパス法での非婦人科検体での推奨標本作製工程は，Pap染色前の塗抹標本ができるまで最低でも1時間を要している[9]。窪田ら[6]は，迅速細胞診での許容範囲時間は通常，標本作製と診断を合わせて，長くとも30分以内であると述べている。われわれはそれには染色・封入まで含む標本作製の全工程に掛かる時間は20分程度に収める必要があると考えた。

兵頭ら[7]が実施したレッドを用いたシュアパス法での迅速細胞診標本作製時間の短縮検討は，「検体遠心/細胞収集(3分)，細胞固定/遠心(3分)，上清破棄/加水細胞浮遊，塗抹(1分・3分・5分・対照10分)，上清破棄/アルコール洗浄，後固定(95%アルコールに浸漬)，迅速Pap染色，脱水・透徹・封入」の工程で行われた。しかしながら，例えば，細胞固定/遠心(3分)の工程について，「得られた細胞沈渣全量(上限500μL)にレッド保存液5mLを加え，よく混和し，1000Gで3分間遠心沈殿後，上清を除去する。」と述べており，実際には，遠心操作の3分に加え，1～2分の時間が必要と推測される。

それらのことより，実際の標本作製に必要な時間は，「検体遠心/細胞収集(3分)+[1～2分]，細胞固定/遠心(3分)+[1～2分]，上清破棄/加水細胞浮遊[1～2分]，塗抹(1分・3分・5分・対照10分)+[1～2分]，上清破棄/アルコール洗浄[1～2分]，後固定(95%アルコール)[1～2分]，迅速Pap染色，脱水・透徹・封入」であると推測された。

上述より，Pap染色前の塗抹標本ができるまでの時間は，塗抹1分の場合，13分～19分，塗抹3分の場合，15分～21分，塗抹5分の場合，17分～23分となると推測された。

また，兵頭ら[7]が実施した迅速Pap染色に掛かる時間は，迅速Pap染色から脱水・透徹・封入完了まで6分程度と推測された。したがって，兵頭らの迅速細胞診標本に実際に必要な時間は，塗抹1分の場合，19分～25分，塗抹3分の場合，21分～27分，塗抹5分の場合，23分～29分になると推測され，どの塗抹時間でも全工程20分を超えてしまう。

われわれは，迅速細胞診における検体からの細胞収集，そして細胞固定から染色・封入まで含む標本作製の全工程に掛かる時間は20分程度に収めることが好ましいと考え，標本作製工程を見直した。シュアパス法での最大の特徴は，収集した細胞沈渣に加水することで，細胞表面が陰性に荷電し，それを重力沈降させ，陽性に荷電した専用スライドガラスと電気的に強固に吸着させることで，細胞剥離や細胞相互の重なりの少ない塗沫標本が作製できることである[10-12]。

非婦人科検体用の保存液であるレッドの成分はイソプロパノール(23.3%)とメタノール(10.0%)，エチレングリコール(6.7%)，ホルムアルデヒド(0.4%)であり，水分が約60%含まれている[13]。そのため，塗抹時の細胞沈渣への加水による細胞浮遊液でなく，保存液そのものを用いても，スライドガラス表面への細胞の電気的吸着は可能ではないかと推測した。

以上のことより，細胞固定後の「遠心⇒上清破棄・加水⇒遠心⇒上清破棄・浮遊」の工程が省略可能であり，細胞固定後，直接，保存液ごと，セトリングチャンバー内に分注し，塗抹することにより，かなりの時間短縮ができると思われた。したがって，本検討での標本作製工程を，「検体からの細胞収集，細胞固定，塗抹，後固定，パパニコロウ染色，脱水・透徹・封入」とした。そして，細胞固定時間(1分・5分・10分)および細胞塗抹時間(1分・5分・10分)と，細胞塗沫量の関連性を検討した。さらに迅速Pap染色について，全工程5分とした(表1)[4,5]。

推奨法(対照法)を含め，10通りの迅速細胞診標本における検討の結果，同一固定時間における塗抹細胞数の比較(表2)において，細胞固定1分では，標本作製法③が最も多く認められ，細胞固定5分では⑥が，細胞固定10分では⑨が最も多く見られた。また，同一塗抹時間における塗抹細胞数の比較では，細胞塗抹1分と5分はそれぞれ，有意差を認めなかった，細胞塗抹10分では⑨が最も多く認められた

が，有意差は③との間（p=0.032）のみに認められた。

上述の検討結果より，固定時間の長さに関わらず，塗抹時間10分において，塗抹細胞数が多くなる傾向を認めたため，細胞塗抹数は固定時間よりも塗抹時間に依存することが示唆された。兵頭ら[7]は塗抹細胞量を少量・中間・多量の3群に分け，各群での細胞塗抹時間（1分・3分・5分）を比較した結果，すべての群において，1分は対照である塗抹時間10分よりも有意に細胞量が低値を示し，細胞塗抹数が塗抹時間に依存することを明らかにした。本研究でも，既存の報告と同様に，塗抹時間が重要であることが確認された。

推奨法⑩での塗抹細胞数は，標本作製法⑨よりも有意に高値（p=0.008）を示した。その理由として，推奨法では塗抹操作において，「遠心・デカント/精製水による細胞浮遊」を行うが，その操作が細胞接着において，レッドのような33%アルコール溶液よりも有利に働いているものと考える。蛋白質の三次元構造の周囲は水分子により保水されているが，細胞表面がアルコールで置換されるとアルコールの疎水基が作用し，蛋白質周囲が疎水性となる。つまり，細胞表面の水分子と結合できないため，ガラスと細胞の接着が減弱すると考えられた[14]。一方，100%の水では，細胞表面が一層，陰性に荷電し，陽性に荷電されたガラスと強固に接着する細胞が多くなる(有利になる)ものと推察される。

また，レッドのようなイソプロパノール/メタノールを主成分とする溶媒と水との混合液体の誘電率(イオンの溶媒和や電解質の解離に大きな影響を及ぼす重要な性質)は，混和する溶媒濃度に応じて溶媒の誘電率と水の誘電率との間の値をもつことになる[15]。水が約80に対し，イソプロパノールは20程度，メタノールは30程度であるため，蛋白質のイオン化が水に比べ，抑制される[16]。そのため，イソプロパノール/メタノールを溶媒とするレッドでの接着は，水との接着に比べ，ガラスと強固に接着する細胞が減少したと考えられた。

しかしながら，われわれは迅速細胞診標本の作製において，「遠心・デカント/精製水による細胞浮遊」の操作の省略こそが，標本作製の全工程に必要な時間を20分程度に収めること（時間短縮）につながる唯一の「カギ」であると考えた。そして，検討した結果，推奨法⑩における細胞量を100%とし，各標本作製法の細胞量ごとにその相対値を求めたところ，70%以上の相対値を有する標本作製法は，③，⑥，⑨のみであった（表2）。また，標本作製法⑨での塗抹細胞数が一番多く，③との間（p=0.032）で有意差を認めたが，③と⑥，⑥と⑨の間では有意差は認められなかった。以上ことから，塗抹細胞数に最も影響を与える要因は塗抹時間であること，また固定時間も僅かながら影響することが示唆された。

迅速細胞診の標本作製で，検体からの細胞収集および染色・封入工程は前者が約4分，後者が約5分の合計9分程度，必要と考えられる。細胞固定-塗抹-後固定を合わせた標本作製の全工程に必要な時間は，標本作製法⑨では21分+9分で30分，⑥は16分+9分で25分，③は12分+9分の合計21分である。「迅速細胞診に必要な時間を20分程度に収める」ことを鑑みると，⑨は適さない。また、③と⑥の間で有意差はないことから、迅速細胞診の標本作製法として，合計時間21分で実施できる③のプロトコルの実用性が最も高いと考え、実際の検体を用いての検討を行った。

胸水，腹水などの体腔液やその洗浄液では主に出現する正常上皮は中皮細胞である[17]。われわれはヒトの代替として，ラットでの胸腔および腹腔での洗浄液を用い，標本作製法③について，中皮細胞を対象に迅速細胞診の標本作製法として適切かどうか，確認した（図1）。その結果，1回目（p=0.041），2回目（p=0.003）ともに，それぞれ有意に低値であった。加えて相対値も1回目（64.4%），2回目（49.3%）ともに，推奨法⑩に対する塗抹細胞数70%以上の相対値を認めなかった。上述の結果は培養細胞PC-9での検討結果と齟齬を認めた。

理由について，シュアパス法[10-12]の標本作製では，陰性に荷電した細胞が陽性に荷電した専用スライドと電気的に強固に結合することで，目的細胞に他の細胞が重ならない(被覆しない)，薄層塗抹システムが採用されているが，この特性が関与したと思われる。培養細胞PC-9は，大きさが均一な孤在性細胞であるとともに，他種の細胞の混在がないため，多数のPC-9細胞が塗抹されやすい状況であったと推測される。

一方，ラットでの細胞採取では生理食塩水を腹腔にかけながら，ブラシで胸/腹腔を軽く擦過して収集したため，薄いシート状の大小の中皮細胞集塊とともに肥満細胞やリンパ球などの血液系細胞[17]も採取された。したがって，孤在性の肥満細胞や血液系細胞が塗抹された部分には中皮細胞集塊が塗抹されづらい状況にあったと推測される（図1）。今後はこれらのことを解消するために，体腔液中の細胞密度との関係性，体腔液中の夾雑物の影響も含め，追加の検証を行う必要がある。

今回，われわれは，迅速細胞診の新しい標本作製法として，LBC法であるシュアパス法とレッド細胞固定液を用い，集細胞した細胞沈渣に加水せず，塗抹するという初めての試みを実施した。その結果，「検体からの細胞収集(4分)-細胞前固定(1分)-細胞塗抹(10分)-細胞後固定(1分)-染色・封入(5分)」と全工程21分の方法が，標本作製時間と細胞判定の両者のバランスをとれたプロトコルであることを見出した。今後は，更なる条件検討をおこない，ヒト体腔洗浄液への適用を検討する。

引 用 文 献

1) 佐々木毅(2012)：平成22年病理診療報酬改定および平成23年胃癌HER2診療保険収載について「術中迅速細胞診および細胞診判断料の新規保険収載とその意味するもの」と「胃癌HER2診断の保険収載と判定の留意点」.

モダンメディア, 58, 49-57.
2) 胃癌取扱い規約, 第15版(2017).日本胃癌学会編, 金原出版, 東京.
3) 肺癌取扱い規約, 第8版補訂版(2021).日本肺癌学会編, 金原出版, 東京.
4) 小松京子, 町田幸雄(2009):術中迅速細胞診標本作製法. Medical Technology. 37, 705-711.
5) 片山博徳, 前田昭太郎, 細根勝, 他(2013) :術中迅速細胞診. 病理と臨床(臨時増刊号), 31, 53-62.
6) 窪田裕美, 水野彩乃, 坂本真吾, 他(2016):術中迅速細胞診における迅速Liquid-based cytology法の有用性−肺腫瘤の穿刺吸引細胞診について−. 松山赤十字医誌, 41, 29-34.
7) 兵頭直樹, 日野典文, 篠﨑陽香, 他(2017):BDサイトリッチ™レッド保存液を用いた術中迅速細胞診の細胞塗沫量に関する基礎的検討. 医学検査, 66, 636-641.
8) Schindelin J, Arganda-Carreras I, Frise E, et al (2012) : Fiji: An open-source platform for biological-image analysis. Nat. Methods. 9, 676–682.
9) 日本ベクトン・ディッキンソン株式会社(2024/06/26): BD サイトリッチ™ 標本作製手順／非婦人科材料用手法. https://www.bdj.co.jp/cytology/support/hkdqj2000008d9jg.html.
10) 則松良明, 尾崎翔子, 喜田有紀, 他(2014):LBCにおけるThinPrep®法およびSurePath™法での細胞固定保存液の検討. 愛媛県臨床検査技師会誌, 33,39-46.
11) Ohsaki H, Shigematsu Y, Irino S,et al(2014): Comparison of two liquid preservatives for SurePath™ slides prepared from voided urine. Diagn Cytopathol, 42,423-427.
12) 川西なみ紀, 則松良明, 大﨑博之, 他(2015):BD液状化検体細胞診保存液における血液の影響に関する基礎的検討. 医学検査, 64, 475-482.
13) 日本ベクトン・ディッキンソン株式会社(2024/06/26): 製品安全性データシート. BDサイトリッチ™レッド保存液. https://www.bdj.co.jp/msds/pdf/491336_490727_491045_R5_20220314.pdf.
14) 畠 榮(2021):細胞診標本における湿固定の理論−細胞診にはなぜ95%エタノールを使うのか−. 岡山臨床細胞学会誌, 39, 19-31.
15) 伊豆津公佑(1980):電気化学測定法シリーズ-溶媒と電解質-. 電気化学および工業物理化学, 48, 530-544.
16) 高橋昭, 田中昇, 丹野弘紀, 他(1987):導電率法による水溶液中の非電解質濃度測定法の研究 I.基礎的検討と濃度計の試作. 日本分析化学, 36, 473-478.
17) 谷崎勝朗, 田中淳太郎, 駒越春樹, 他(1982):ラット腹腔肥満細胞に関する研究 第1報 : 肥満細胞のpurificationについて. 岡大三朝医療センター研究報告, 52, 23-28.

要　　旨

目的:BDシュアパスシステムにおける細胞保存液「BDサイトリッチ™レッド」を用いた迅速細胞診において, 標本作製時間の短縮を目的とした検討を行った。
方法:肺癌細胞由来株PC-9細胞, 及びラットの胸腔/腹腔洗浄液から採取した中皮細胞を対象に各条件下で液状化検体細胞診標本作製を行い, 固定時間, 及び塗抹時間が細胞塗抹数に与える影響を比較検討した。
結果:「固定-塗抹」の工程では, 塗抹時間が細胞塗抹数に大きく影響することが明らかとなり, 塗抹時間10分を確保することで, PC-9細胞の塗抹数は推奨法との相対値70%以上を満たした。しかしながら, ラット体腔液を材料とした検討では, 同じ塗抹時間でも推奨法より細胞塗抹数は低くなる傾向にあった。
まとめ:培養細胞を用いた検討により, 遠心・デカント/精製水による細胞浮遊操作の省略, 及び固定時間の短縮により全工程21分のプロトコルを見出した。今後は, 更なる条件検討をおこない, ヒト体腔洗浄液への適用を検討する。

利 益 相 反

本研究に開示すべき利益相反はない。