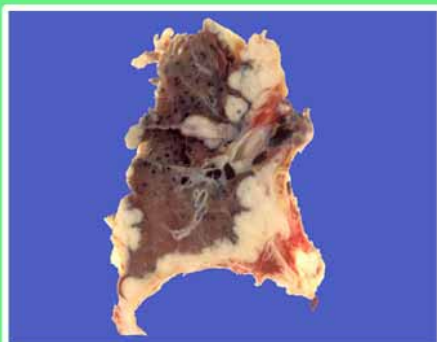
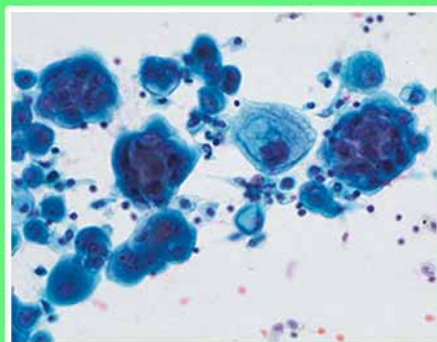
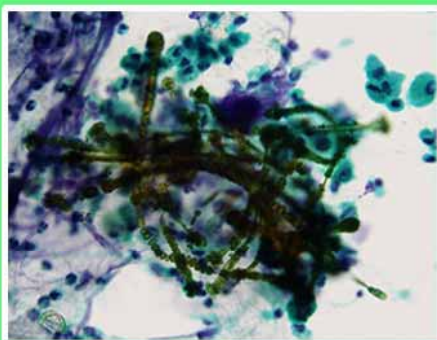
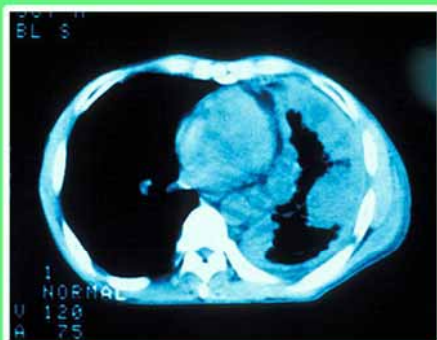


細胞診標本作製マニュアル

体腔液

Cytopreparation of
Serous Effusions



細胞検査士会（編）



目次

- ・ 体腔液検体の取り扱いフローチャート // P1
- ・ 貯留体腔液の検体採取と性状の確認 // P2
- ・ 血性検体の処理法 // P2
 - 1. 二重遠心法
 - 2. 溶血法
- ・ 集細胞法 // P3
 - 1. 遠心回転数について
 - 2. 遠心回転数と上清細胞数の関係について
- ・ 塗抹法 // P4-6
 - 1. 細胞剥離を防ぐ方法
 - 2. 標本作製枚数
 - 3. 引きガラス法 (Wedge 法)
 - 4. すり合わせ法
 - 5. フィルター法
 - 6. 自動遠心塗抹法
- ・ 固定法 // P7
 - 1. 一般的な固定法
 - 2. 迅速固定法
- ・ 体腔洗浄液標本作製法 // P8
 - 1. 検体の提出および検体の性状
 - 2. 血性検体の処理
 - 3. 集細胞について
 - 4. 細胞変性の防止
- ・ ギムザ, メイ・ギムザ染色 // P8-12
 - 1. ギムザ染色の基礎
 - 2. ロマノウスキー効果と異染性 (メタクロマジー)
 - 3. 各種染色の特徴
 - 4. ギムザ, メイ・ギムザ染色の実際
 - 5. ギムザ染色の長所・短所
 - 6. ギムザ染色による細胞の鑑別
- ・ 免疫細胞化学染色 // P13-15
- ・ セルブロック作製法 // P16-18
 - 1. コロジオンバッグ法
 - 2. クライオバイアル法
- ・ 細胞転写法 // P19-20
 - 1. 細胞転写法とは
 - 2. 細胞転写の手技

【体腔液細胞診標本作製マニュアルの目的】

体腔液細胞診で正しい細胞判定をするためには、良好な標本作製を行うことはもとより、標本上にいかに多くの細胞を集められるかを考慮する必要がある。そこで本マニュアルでは、標本作製に関して、詳細な留意点を検討し、初心者でも良好な標本作製が可能な指標を示すことを目的とした。



検体採取（採取後直ちに処理または冷蔵保存）

血性

漿液性

膿性

粘性

凝固

溶血法

遠沈（3000rpm. 3～5分）

－標本作製－

バフィーコートがある

沈渣が確認できない

すり合わせ法
捺印法
セルブロック法

引きガラス法
すり合わせ法

自動遠心塗抹法
フィルター法

固定（湿固定・乾燥固定・スプレー固定）

染色（パバニコロウ染色、ギムザ染色、粘液染色、免疫細胞化学染色など）

・貯留体腔液の検体採取と性状の確認

体腔液を穿刺採取する前には、被験者の体位を動かして体腔に沈んでいる細胞を浮遊させてから採取を行うよう、あらかじめ穿刺担当の医師に周知しておく必要がある。

細胞診検査に必要な体腔液量は、検体中に含まれる細胞量に左右されるため、できるだけ多く提出してもらい、検体処理の過程で必要量を判断し使用するようにする。

フィブリンの析出を防ぐために血液を対象とした抗凝固剤（EDTA、ヘパリン、3.8%クエン酸ナトリウム液など）が使用されることがあるが、体腔液検体においてはその作用は弱く、採取後時間の経過とともに、しばしばフィブリンの析出がみられる。細胞変性を招くこともあるため、**原則として抗凝固剤の使用に頼るよりも、採取後の速やかな検体提出・標本作製を心がけることが重要である。**

体腔液検体標本作製では検体の肉眼的観察が非常に重要で、検体の採取量、色調、清濁、凝固（フィブリン析出）の有無や血性・漿液性・粘性・膿性といった性状の確認が必須である。検体の性状を把握した適切な標本作製が、腫瘍細胞の検出率を上げる確かな診断をするためのポイントとなる。

【貯留体腔液検体の保存】

検体採取後直ちに標本作製を行なうことが基本であるが、やむを得ず長時間の保存を経て検体処理を行わなければならない場合もある。滲出液では、その蛋白成分により、室温に24時間程度放置されても細胞変性は軽度である。漏出液の場合は、室温に放置されると、滲出液より早期から細胞変性が起こる。冷蔵庫保存では、細胞変性が起きるものの軽度であり、ともに48時間後であっても多くの場合、細胞診判定は可能である。また、検体に等量の50%エタノールを添加し固定を行えば、軽度の収縮がみられるものの数日は保存が可能である。

・血性検体の処理法

血液混入が著しい場合に、無処理で標本作製すると、赤血球と有核細胞が重なりスクリーニングしづらい標本となることがある。また、有核細胞数が少ないことによる誤陰性の危険性も高くなる。そこで、有核細胞を効率良く集めるため、検体を一度遠心した後、沈渣の状態を確認し、必要に応じて適切な検体処理法を選択して、細胞の塗抹を行なう。

遠心後、バフィーコート層が明瞭であれば、その部位より細胞採取し塗抹を行う(図1)。バフィーコート層が不明瞭な場合は、赤血球層以外の上清部を採取し、必要に応じて二重遠心法、溶血法を選択する。

1. 二重遠心法

一度遠心したのち、少量の赤血球およびバフィーコートを含む部分を採取し、再遠心することで、有核細胞を効率よく収集する方法である。

2. 溶血法

バフィーコートが不明瞭な場合には、溶血させることで赤血球層に混じた有核細胞を効率的に収集することができる。溶血剤には、0.9%塩化アンモニウム溶液、1.2%蔞酸アンモニウム溶液などを用いる。迅速検査時には、細胞変性はやや強くなるが溶血速度の速い1.2%蔞酸アンモニウム（溶血時間；3～5分程度）を、通常検査では溶血にやや時間がかかるが細胞変性の少ない0.9%塩化アンモニウム（溶血時間；5～10分程度）を用いる。なお、検体提出時の性状観察において著しい末血混入が認められる場合には、遠心前に検体と溶血剤を等量混合し、溶血後に遠心操作を行って集細胞することも可能である。

溶血後の遠心操作により、有核細胞は遠心管の底部に集められる(図2)。



バフィーコート層の明瞭な検体(図1)



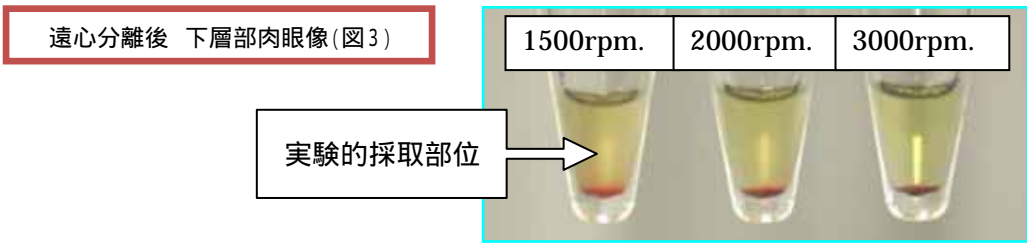
溶血操作後に遠心した検体(図2)

1. 遠心回転数について

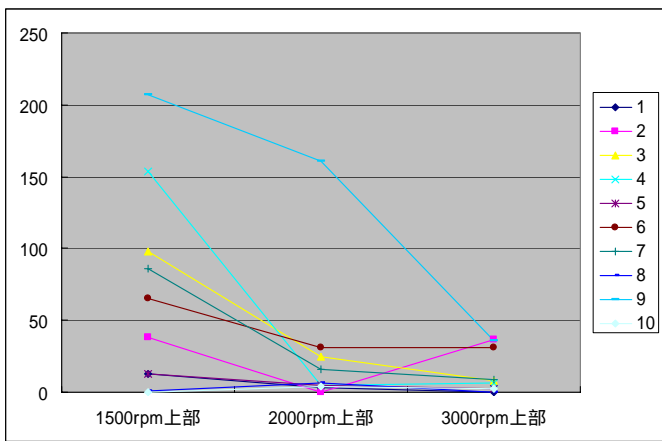
体腔液細胞診では、まず、体腔液中に浮遊する細胞をいかに集めるかが肝要であり、遠心器を用いた遠心力による集細胞が一般的で簡便な方法である。通常、集細胞する遠心力は数百～数千 G 程度と言われており、細胞診材料では約 360～1500G で行われていることが多い。この遠心力を得るには、遠心器の回転半径が 15cm の場合、約 1500～3000rpm. に相当する回転数が必要となる。3000rpm. で、3～5 分間程度の遠心分離を行い、細胞の回収に努める。

2. 遠心回転数と上清細胞数の関係について

遠心回転数と上清に浮遊する細胞数の実験結果を示す。10 症例を用い 1500rpm. 2000rpm. 3000rpm. の回転数における、上層部と下層部（図 3）の上清 5μl 中（上層部：図 4 と下層部：図 5）に出現する細胞数を、ギムザ染色標本にてカウントした。なお、遠心時間は 3 分間に設定した。



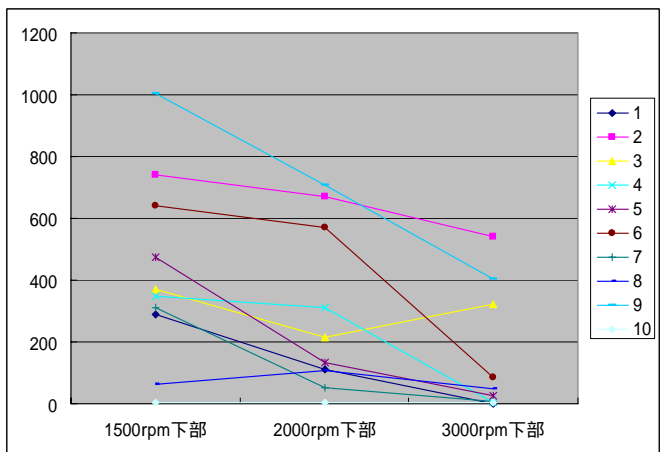
上層部（液面から 5mm 下方部より 5μl の上清を採取）の細胞数



1500rpm. (約 360G) では、多くの細胞を認めるが、2000rpm.、3000rpm. では浮遊細胞数は減少する。

(10 症例中の上層部細胞数: 図 4)

下層部（細胞層から 5mm 上方部より 5μl の上清を採取）の細胞数



1500rpm. (約 360G) では、多くの細胞（癌細胞を含む）を認めるが、2000rpm.、3000rpm. では浮遊細胞数は減少する。

(10 症例中の下層部細胞数: 図 5)

1. 細胞剥離を防ぐ方法

剥離防止剤でコートされたスライドガラスの使用や、スプレー固定（噴霧式固定剤）が有効である。また、ポリエチレングリコールを1%の割合で加えた95%エタノール固定や遠沈後沈渣物に保存液を少量加えて標本作製する方法等の報告もある。

2. 標本作製枚数

標本枚数は、各施設での能率や経済性の問題を考慮しながら決める必要があるが、一般的には特殊染色や免疫細胞化学染色などの必要性に配慮して、最低でも湿固定3枚（パパニコロウ染色、PAS 反応、その他）、乾燥1枚（ギムザ染色）の作製を推奨する。また、標本作製時に残った検体は、最終診断が報告されるまで、冷蔵保存するかセルブロックを作製することが望ましい。

3. 引きガラス法（Wedge 法）

スライドガラスの一端に適量を落とし、引きガラスで塗抹する（図6）。引きガラス法では大型細胞集塊が引き終わりに集まりやすい。沈渣の性状と量によりスライドガラスと引きガラスの角度、スピードを調整する。

細胞が多い検体や粘稠度ある検体では角度を低く、ゆっくり引く（図7）。粘稠度のない検体では、角度を高く早く引く（図8）。塗抹が厚すぎたり、赤血球が多い塗抹標本では染色中に塗抹した細胞が剥離しやすい。そのため、塗抹は「薄すぎず厚すぎず」が鉄則である。

塗抹例を右下に示す（図9）。パパニコロウ染色のための塗抹法としては、**②**が推奨される。

①は、血液塗抹標本作製時と同様の手技による、引き終わりを作らない塗抹方法である。細胞同士の重なりは少ないが、塗抹後に細胞が乾燥しやすい。そのため、湿固定には迅速な固定操作が要求される。乾燥固定後のギムザ染色にも有用である。**②**は、湿固定時の引き終わりの乾燥を避けるため、引き終わりに少量の沈渣物が残るように塗抹する方法である。

③は、塗抹速度が一定でないために段ができてしまった標本で、固定時に細胞剥離が起きやすくなる。また、塗抹にムラがあるため、スクリーニングしにくい場合がある。**④**は、塗抹が厚く、引き終わりの量が多いために細胞剥離が起きやすくなる。

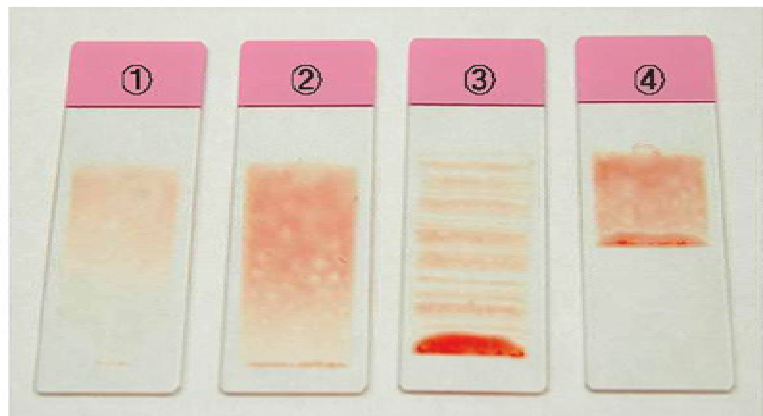


引きガラスによる塗抹法(図6)



細胞が多い検体、粘稠度のある検体の場合は引きガラスをねかせて(20~30度)塗抹する(図7)

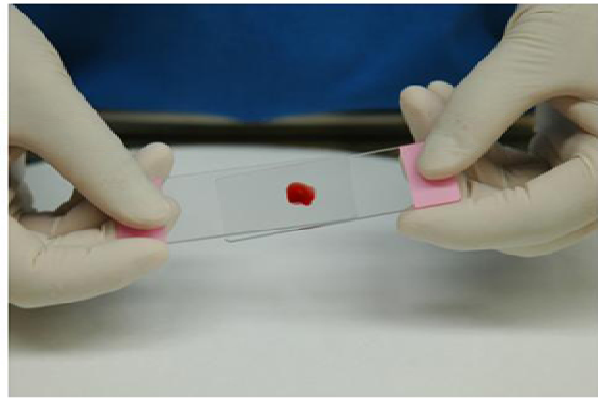
粘稠度がない検体の場合は引きガラスを立てて(45~70度)塗抹する(図8)



パパニコロウ染色のための塗抹は、**②**を推奨(図9)

4. すり合わせ法

スライドガラス上に検体を載せ、別のスライドガラスを軽く重ね、左右または上下に引き伸ばして塗抹する(図10)。すり合わせ法は粘稠度の高い検体に有用であるが、蛋白濃度の低い検体では引きガラス法と比べて細胞保持が悪く、細胞分散がありスクリーニングしにくいこともある。



すり合わせ法による塗抹(図10)

5. フィルター法

吸引、濾過により5 μ ないしは10 μ 孔のメンブレンフィルター上に細胞が収集される。細胞の回収率が高く、鏡検する面積も狭いため、効率的なスクリーニングができる。溶血操作は不要であり、腹腔、胸腔洗浄液で血性の検体に有用。また、細胞数が少ない検体や迅速な報告が必要な場合は有効な手法となる。

6. 自動遠心塗抹法

自動遠心塗抹法(オートスメア法、サイトスピン法など)は集細胞効果に優れており、細胞数が少ない検体の標本作製に有用である(図11)。細胞量が多い検体では、細胞が重なってスクリーニングに支障を生じることがあるため、検体を希釈して濃度を調整する必要がある。

1) オートスメア法による処理

スライドガラスをオートスメア用のチャンパーにセットする(図12)。

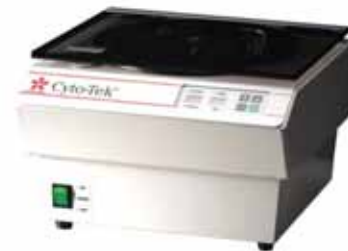
適量の体腔液検体をチャンパーに注ぐ。

オートスメアにセットする(図13)。

1500~2500rpm.で3分間以内の遠心を行う。

遠心後、チャンパー内に残った上澄みを捨てる。

チャンパーをはずし、直ちにスライドガラスを固定液へ入れる。



オートスメア(図11)

資料提供: (株)サクラファインテックジャパン

【注】・血性の強い検体はオートスメア処理する前に、あらかじめ遠心器にて遠心を行い、バフィーコートから採取した検体を塗抹する。

・遠心後、細胞成分の剥離を防ぐため、チャンパー内の上澄み液をできる限りよく切ることが必要。

・万一塗抹量が多くなってしまった場合、チャンパーからスライドガラスをはずした後に新しいスライドガラスを用いてすり合わせ法を行う。

・固定時のコンタミネーションを防ぐため、固定液の容器は一検体ごとに用意する。

・ギムザ染色を行う場合、チャンパーからスライドガラスをはずした後、直ちにドライヤーなどにより冷風にて乾燥させる。

・オートスメアに用いたチャンパーなどの器具は水洗した後、洗浄液で洗う(超音波洗浄器を使用すると、より効果的)。



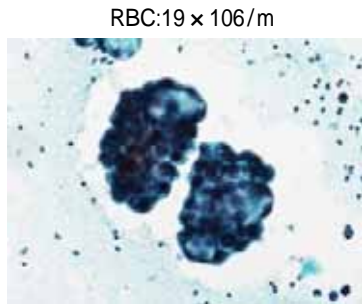
スライドガラス、セルをチャンパーにセット(図12)



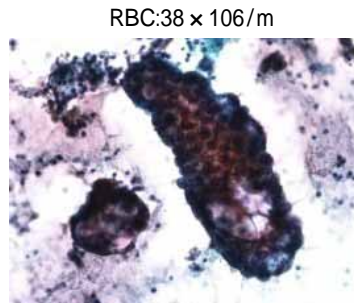
縦にして試料を注ぎ、遠心(図13)

2) オートスメア処理における血性検体の適正について

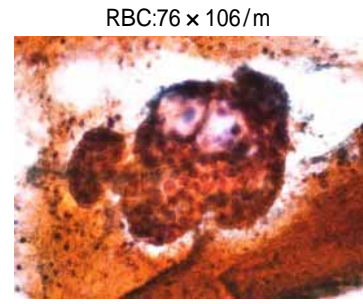
検体に含まれる赤血球量 (:少量 ~ :多量) に応じて、塗抹標本の細胞所見が左右される。それぞれの検体の塗抹所見を下に示す (図 1 4) 。



赤血球数が少なく、細胞集塊が詳細に観察でき、診断に最も適した検体。



の検体に比べ赤血球数が多く、細胞集塊の染色性も劣るが、診断に支障はない検体。



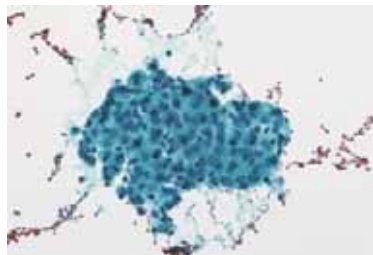
や の検体に比べ赤血球数が非常に多く、細胞集塊が赤血球に埋もれてしまい染色性が悪く、診断することが困難な検体。

含有赤血球の量と細胞所見 (図 1 4)

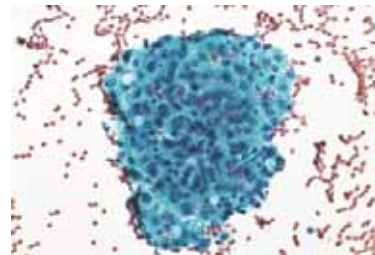
3) 遠心時間による細胞の変化

スライドガラスとチャンバーの間に濾紙フィルターを使用した場合、遠心時間が 1 分間および 3 分間では、細胞は乾燥による影響をほとんど受けないが、5 分間では明らかに乾燥による細胞変性が起こり、遠心時間は 3 分間以内にとどめることが必要である (図 1 5) 。

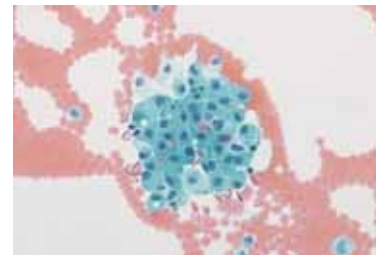
スライドガラスとチャンバーの間にゴム板を使用した場合、遠心時間による細胞変化は起こらない。



1 分間



3 分間



5 分間

濾紙フィルター使用時の遠心時間による細胞変化 (図 1 5)

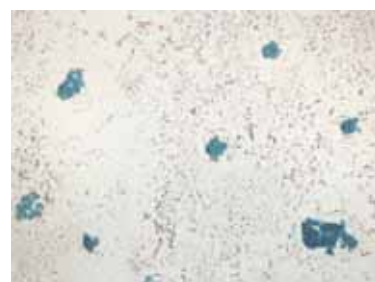
4) 回転数による塗抹細胞量の変化

500rpm. で 3 分間処理した標本では、ゴム板・濾紙フィルターいずれを使用した場合も、共にスライドガラスへ塗抹される細胞数が著しく少なく、全体的に細胞がスライドガラスから浮いた感じの標本になる。1500rpm. および 2500rpm. では、適正な細胞量が得られ、良好な標本の作製が可能である (図 1 6) 。

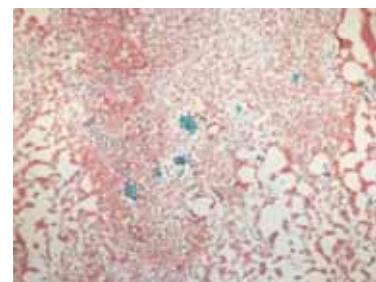
ただし、2500rpm. で濾紙フィルター使用の場合には、水分の抜けが早く、細胞の乾燥を防ぐために遠心時間を調整する必要がある。一般的には、1500rpm. 前後の回転数による塗抹が推奨される。



5 0 0 rpm.



1 5 0 0 rpm.



2 5 0 0 rpm.

回転数による細胞塗抹量の変化 (図 1 6)

固定法

1. 一般的な固定法

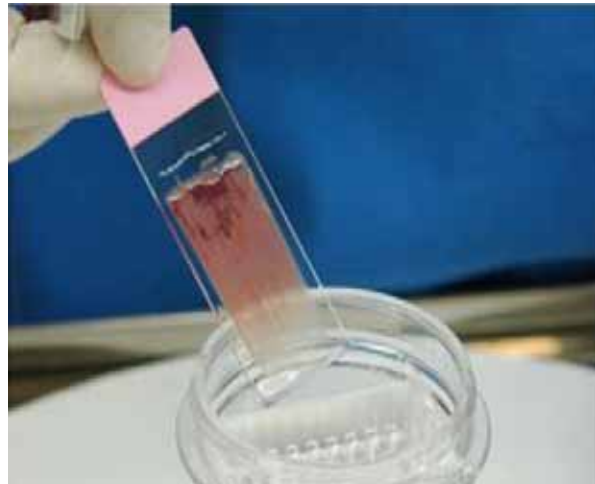
固定には湿固定、スプレー(噴霧式固定剤)固定、乾燥固定等がある。湿固定には95%エタノールを用い、通常15分以上の固定時間が必要である。

塗抹後、固定液に入れる際には、一気に入れるとムラのない良好な塗抹標本となる(図17)。途中で止めると塗抹面に段ができてしまい、細胞剥離の原因となる(図18)。また、塗抹後速やかに固定しなければ乾燥により細胞が膨化し、判定困難となる。

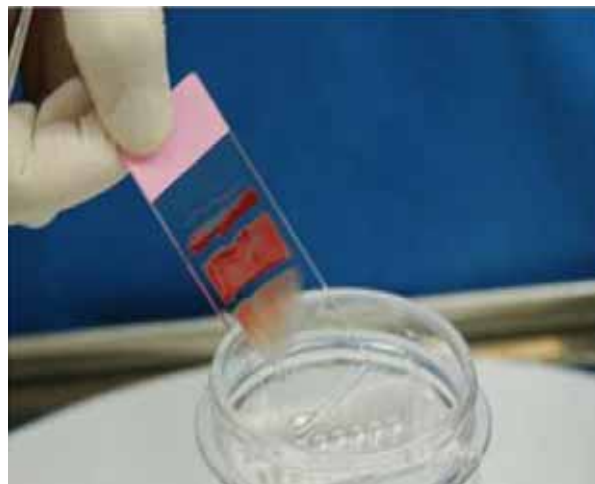
スプレー固定は固定時間が短くて済むことから、術中迅速細胞診標本作製時に有効である。塗抹後、塗抹面に直接スプレーを行うとムラができやすいので、一度95%エタノールに浸漬したのち、直ちに取り出してスプレーを行うと良好な標本となる。

ギムザ染色時に必須である乾燥固定は、塗抹後、ドライヤー等で瞬時に風乾させることがポイントである。

PAS反応のための固定は、湿固定、乾燥固定いずれも可能であるが、乾燥固定標本では核の染色性が低下するため染色を長めにし、湿固定標本と細胞の大きさが異なることを念頭において注意深く観察する必要がある。



ムラのない良好な塗抹標本(図17)



塗抹面に段のできた標本(図18)

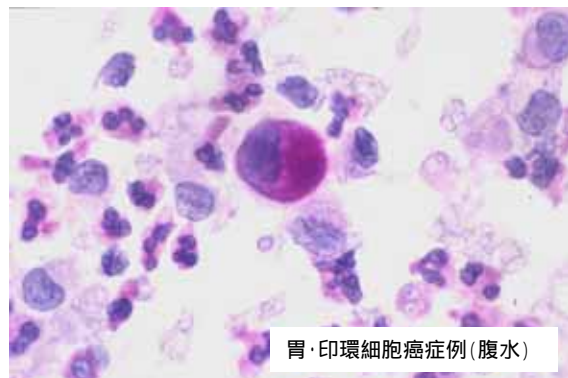
2. 迅速固定法

30に加熱した95%エタノールを用いると1分で湿固定が可能である。95%エタノールは、検体を遠心している間に温水で加熱しておくといよい。

以下に、加熱エタノール固定を利用した迅速PAS反応の手順とその染色結果を示す(図19)。加熱PAS反応は、マイクロ波を利用するとさらに短縮可能(各液とも1分)であるが、人数の少ない施設では他の作業と並行して進めることのできる温水加熱PAS反応が便利である。

迅速PAS反応の手順

- | | | |
|------------------|----|-----|
| 1. アルコール固定 | 30 | 1分 |
| 2. 0.5%過ヨウ素酸 | 30 | 3分 |
| 3. シッフ試薬 | 30 | 3分 |
| 4. 水洗(色が出なくなるまで) | | |
| 5. ヘマトキシリン | | 30秒 |
| 6. 水洗・脱水・透徹 | | |



加熱PAS反応の手順と染色所見(図19)

・体腔洗浄液標本作製法

1．検体の提出および検体の性状

胃癌の術中腹腔内洗浄細胞診ガイドラインによれば、「生理食塩水 100～200ml を腹腔内に静かに注入し、ダグラス窩より採取した洗浄液を検体とする」とあり、実際には 50～150ml の検体が提出されることが多い。検体の性状については、開腹後の採取であるため、しばしば血液の混入が認められるが、貯留液検体とは異なり、フィブリンが析出することは少ない。症例および採取方法によって、細胞成分が多く混濁した検体、細胞数が少なく透明である検体など、その性状は様々である。

2．血性検体の処理

洗浄液検体ではしばしば血液の混入がみられる。方法については貯留体腔液の項(2 ページ)を参照。

3．集細胞について

遠心法の場合、迅速検査では通常検査と異なり、短時間(1～2 分間)で集細胞する。

自動遠心塗抹法(オートスメア法)は集細胞効果に優れており、塗抹も同時にできるが、出現細胞数が多い場合、細胞どうしが重なるため検鏡に支障を生じることがある。明らかに細胞数が少ない検体例では、狭い範囲に細胞を塗抹することで、スクリーニングが容易となり、有用な方法と思われる。

フィルター法は、細胞成分が少ない場合、効果的に細胞を狭い範囲に集め、赤血球混入の多い検体では、溶血の必要もない。また、固定や染色過程で細胞剥離が起こりにくい。

いずれの方法による場合でも、フィブリンがみられる場合には、これを竹串やピンセットなどで充分ほぐした後、集細胞する。残ったフィブリン塊は、セルブロック標本としておくと、迅速検査としての利用はできないが、出現細胞が少ない場合や、細胞鑑別が困難な場合の検索に使用することができる。

4．細胞変性の防止

洗浄液検体では、生食による洗浄のため、出現細胞の細胞形態、細胞質の染色性、核形、核クロマチン構造などが貯留液検体に出現する細胞とは異なる。変性に伴う細胞形態の変化、核形の不整は不可逆的であり、防ぐことは難しいが、核クロマチンの変性については、沈渣にアルブミンなどの蛋白成分を添加することで軽減することができる。とくに乾燥標本では細胞の変性が顕著であり、この操作を省略すると、細胞の同定さえも困難な標本となることがある。上清の蛋白濃度が 3 % となるように添加すると良い結果が得られる。濃度が高すぎると細胞変性を抑えることはできるが、染色の際に細胞質が濃染する。実際の標本作製の現場では、上清の濃度を測定しながら添加することは困難であるので、上清をできるだけ除去した後、沈渣に仔牛血清やアルブミン液を 1 滴滴下し、細胞を浮遊させて塗抹する。完全に変性を抑えることはできないが、貯留液に近いクロマチン構造を維持することができる。煩雑な操作ではないので必ず行なうべきである。

・ギムザ、メイ・ギムザ染色

体腔液細胞診では尿・脳脊髄液などの液状検体同様にパパニコロウ染色では標本作製過程(固定・染色)で細胞の剥離が多い。したがって、標本作製過程での細胞剥離の少ないギムザ染色が重要である。また、ギムザ染色は、悪性リンパ腫をはじめ小型円形細胞腫瘍の鑑別に適している。

1．ギムザ染色の基礎

最適なギムザ染色標本作製するためには、いわゆるギムザ染色に代表されるロマノウスキー染色の基礎である色素成分の特色を理解する必要がある。

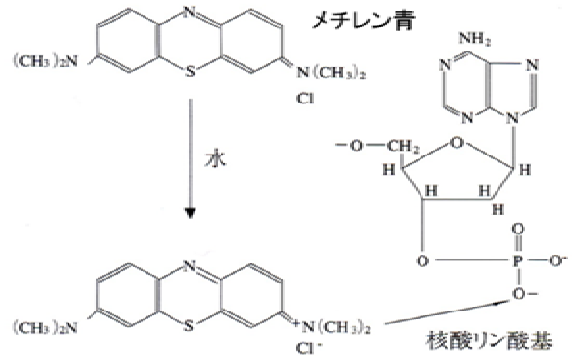
ギムザ染色における色素は、酸性色素(図 2 0)と塩基性色素(図 2 1)からなる。

酸性色素：COONa,SO₃Na などの酸性官能基を有し、水溶液では色素は（-）に荷電

塩基性色素：NH₂,NHCH₃,NH(CH₃)₂ などの塩基性官能基を有し、水溶液では色素は（+）に荷電



酸性色素の染色メカニズム(図20)



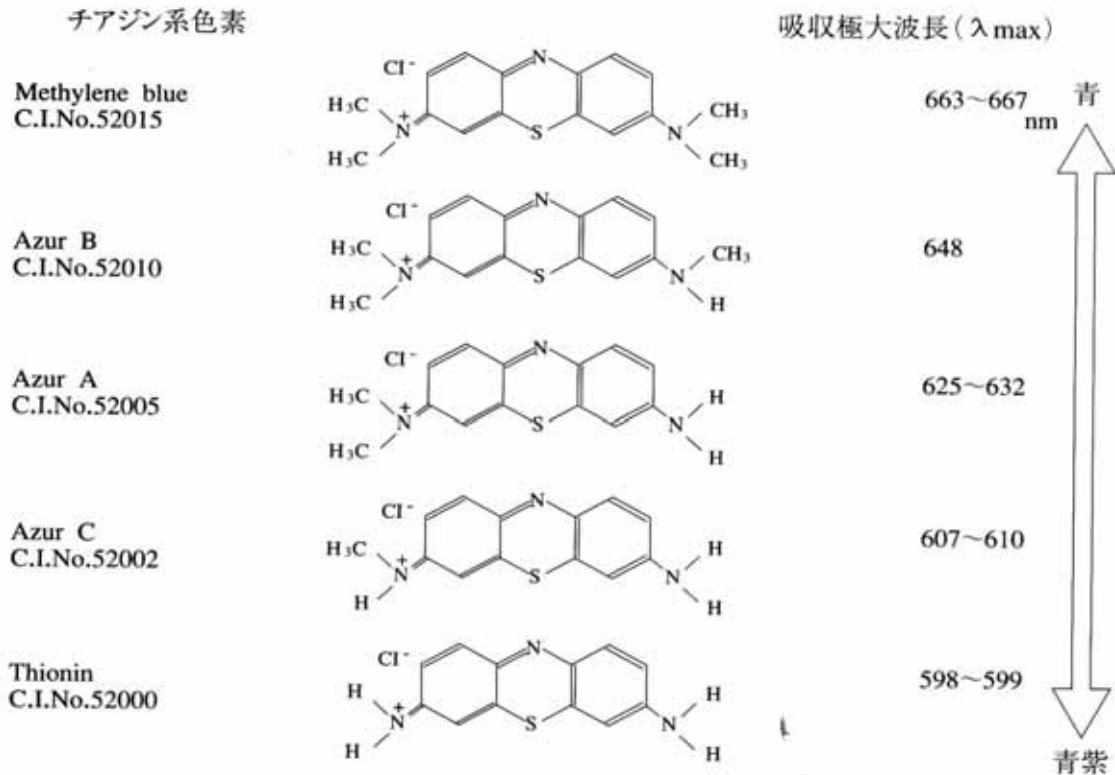
塩基性色素の染色メカニズム(図21)

酸性色素の代表であるエオシン Y は水溶液中では（-）に荷電し、（+）に荷電している好酸性成分（例えばアミノ基を有するリシンやアルギニン豊富な蛋白質、赤血球、好酸球顆粒など）と結合する。

一方、メチレンブルーから成熟したアズール B は水溶液中では（+）に荷電し、（-）に荷電している好塩基性成分（例えばリン酸基を有する核酸やカルボキシル基を有するグルタミン酸豊富な蛋白質など）と結合する。

すなわち DNA リン酸基を有する核には塩基性色素のアズール B が結合して紫色となり、リボゾーム（RNA リン酸基）を多く含む好塩基性細胞質（幼若細胞、リンパ球、単球の細胞質など）は、メチレンブルーが結合することにより濃染～淡青色に染まる。

ギムザ染色液中のチアジン系色素は、メチル基を4個持つメチレンブルーから酸化成熟することによりアズール B アズール A アズール C チオニンへと変化し、同時に色素は青 青紫へと変化するとされている（図22）。



ギムザ染色液中のチアジン系色素の分子構造と吸収波長(図22)

2. ロマノウスキー効果と異染性（メタクロマジー）

ギムザ染色での色素は pH6.3～7.3 の水溶液で、青色の陽イオン色素（塩基性色素）であるアズール B と赤橙色の陰イオン色素（酸性色素）であるエオシン Y の混合液では、単に青色や赤橙色のみでなく多種の色調が得られる。これはロマノウスキー効果と称され、この効果は陽イオン色素アズール B と陰イオン色素エオシン Y が解離した状態の時に得られ、水溶液でなければならない。したがって、メタノール溶液中（ギムザ原液やメイ・グリュンワルド液）では両色素は結合したままの中性色素として存在しロマノウスキー効果は得られない。

またギムザ染色は異染性に優れている。異染性とは組織や細胞成分が色素本来の色調と異なった染色性を示す変調現象のことで、ギムザ染色では基底膜物質や間質性粘液が強い異染性を示して桃色～赤紫色に染まる。

3. 各種染色の特徴

ギムザ染色：核内構造の観察は良好であるが、アズール顆粒・特殊顆粒の証明はやや不良。

ライト染色：アズール顆粒・特殊顆粒の証明は良好であるが核網構造の観察には不適。

メイ・ギムザ染色：アズール顆粒・特殊顆粒の証明は良好で核網構造の観察も容易。

ライト・ギムザ染色：メイ・ギムザ染色所見に類似。やや顆粒が大きく強く染まる傾向にある。

ディフ・クイック染色：核の染色はやや不良だが細胞質の染色性は良好で赤血球も肌色。細胞内特殊顆粒の好中性顆粒は良好だが、塩基性顆粒は不良。

ヘマカラー染色：核の染色はやや不良。細胞質の染色性は赤染傾向があり大リンパ球と単球の鑑別がやや困難。赤血球もくすんだ肌色。細胞内の好中性顆粒は比較的良好だが塩基性顆粒は不良。

4. ギムザ、メイ・ギムザ染色の実際

染色法には大別して 上載せ法と 浸漬法がある。どちらの方法でも良いが染色する標本が少ないときは上載せ法で、多いときには浸漬法を行う。

ギムザ染色の手技

- 1) 固定：塗抹後、急速に乾燥させた標本を 100%メタノールで 1～3 分間固定 急速乾燥
- 2) 染色：ギムザ希釈液にて尿や脳脊髄液は 5～10 分、その他の検体は 20～30 分間染色
- 3) 水洗・乾燥：流水にて 10～30 秒水洗後、冷風～温風にて充分乾燥
- 4) 透徹・封入

ギムザ希釈液（使用染色液）の作り方：

1/15M リン酸緩衝液（pH6.4）を蒸留水などで 10 倍希釈し、その希釈液 1ml に対してギムザ原液を 1～1.5 滴入れ混和する。

メイ・ギムザ染色の手技（上載せ法）

- 1) 固定：塗抹後、急速に乾燥させた標本にメイグリュンワルド液 10～15 滴を載せ 1～3 分固定
- 2) 染色：等量のリン酸緩衝液を載せ 1～3 分染色
- 3) 洗浄：ギムザ希釈液にて標本の端から洗浄
- 4) 染色：ギムザ希釈液を満載し 15～30 分染色
- 5) 水洗・乾燥：流水を標本の端から流し 15～30 秒水洗、冷風にて充分乾燥
- 6) 透徹・封入

染色上の注意点：

- 1) ギムザ染色での固定液（100%メタノール）は染色バット使用時には頻繁に交換すること。特に湿度の高い検査室では留意し、また固定液の入ったバットは固定後直ちに蓋をする。
- 2) ギムザ希釈液は使用時に調整する。希釈液は時間の経過と共に色素顆粒ができて徐々に染色性が低下する。
- 3) 染色時間は室温や細胞数により調整する。低温や細胞数が多い場合、時間は長めに設定する。染色は薄いよりは濃いほうが良い。

5. ギムザ染色の長所・短所

ギムザ染色は、パパニコロウ染色の弱点をカバーするための染色法として、細胞診分野でももっと応用・活用すべき染色法の一つである。特に昨今、経済効率が叫ばれている臨床検査部門においては、「何処でも・誰でも・簡単に」染色することができるメリットを利用し、形態診断に役立てたい。要は「いかにギムザ染色での細胞の読み（観察能力）を養うか」が重要であり、その長所・短所を把握しつつ自らの観察能力をクリエイトしなければならない。

長所

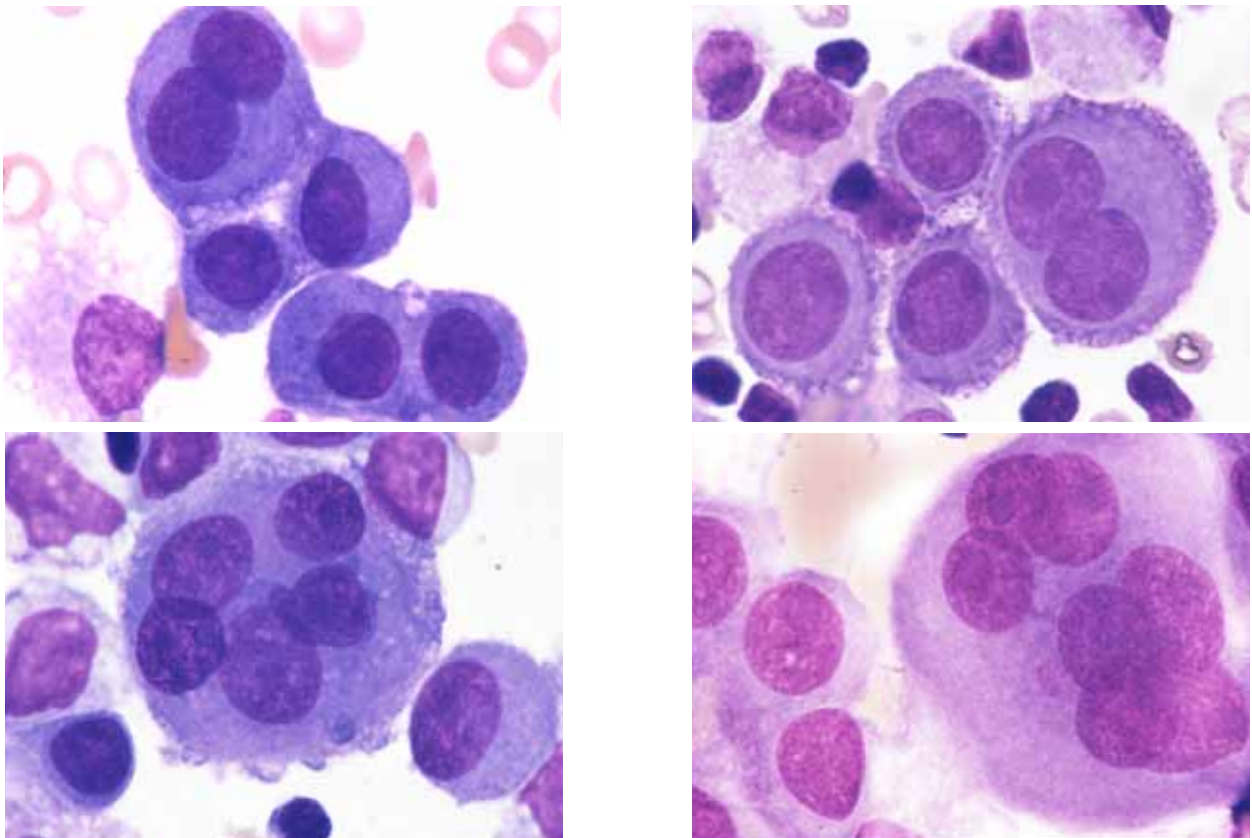
- 1) 脳脊髄液・体腔液・尿など細胞剥離が起こりやすい検体の観察に適する。
- 2) 乾燥塗抹標本でも鏡検観察が可能で迅速診断に適する。
- 3) 白血病・悪性リンパ腫などの造血系腫瘍の診断には必須である。
- 4) 打ち抜き状空胞の観察が容易である。
- 5) 小型円形腫瘍細胞の鑑別に有意義である。
- 6) 粘液様物質（間質性粘液、基底膜物質、膠原線維状球状物など）の鑑別に異染性が役立つ。

短所

- 1) 厚い塗抹標本や重積性のある細胞観察には不適。
- 2) 扁平上皮系細胞の分化観察には適さない。
- 3) クロマチン（オイクロマチン、ヘテロクロマチン）の種類は判定困難。
- 4) 核小体の詳細な観察（形、クロマチンとの関係）は困難。
- 5) とくに壊れやすい細胞（幼若細胞・芽球）の観察には不適。

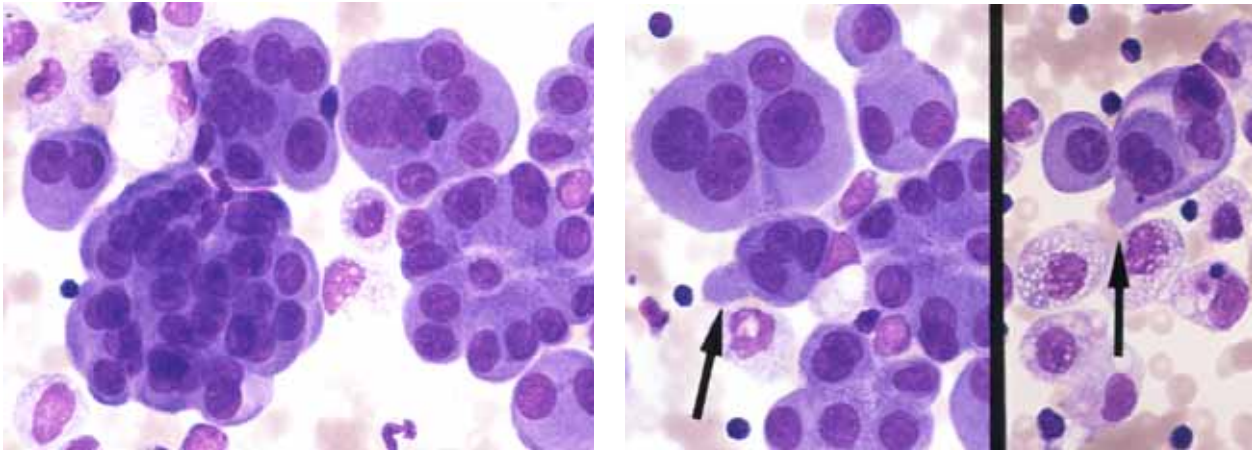
6. ギムザ染色による細胞の鑑別

近年、アスベストが原因となり発生する悪性中皮腫が問題視されている。ここでは、ギムザ染色による反応性中皮細胞と悪性中皮腫細胞の所見の特徴と鑑別（図23、24）や腺癌細胞との鑑別（図25）について掲載する。



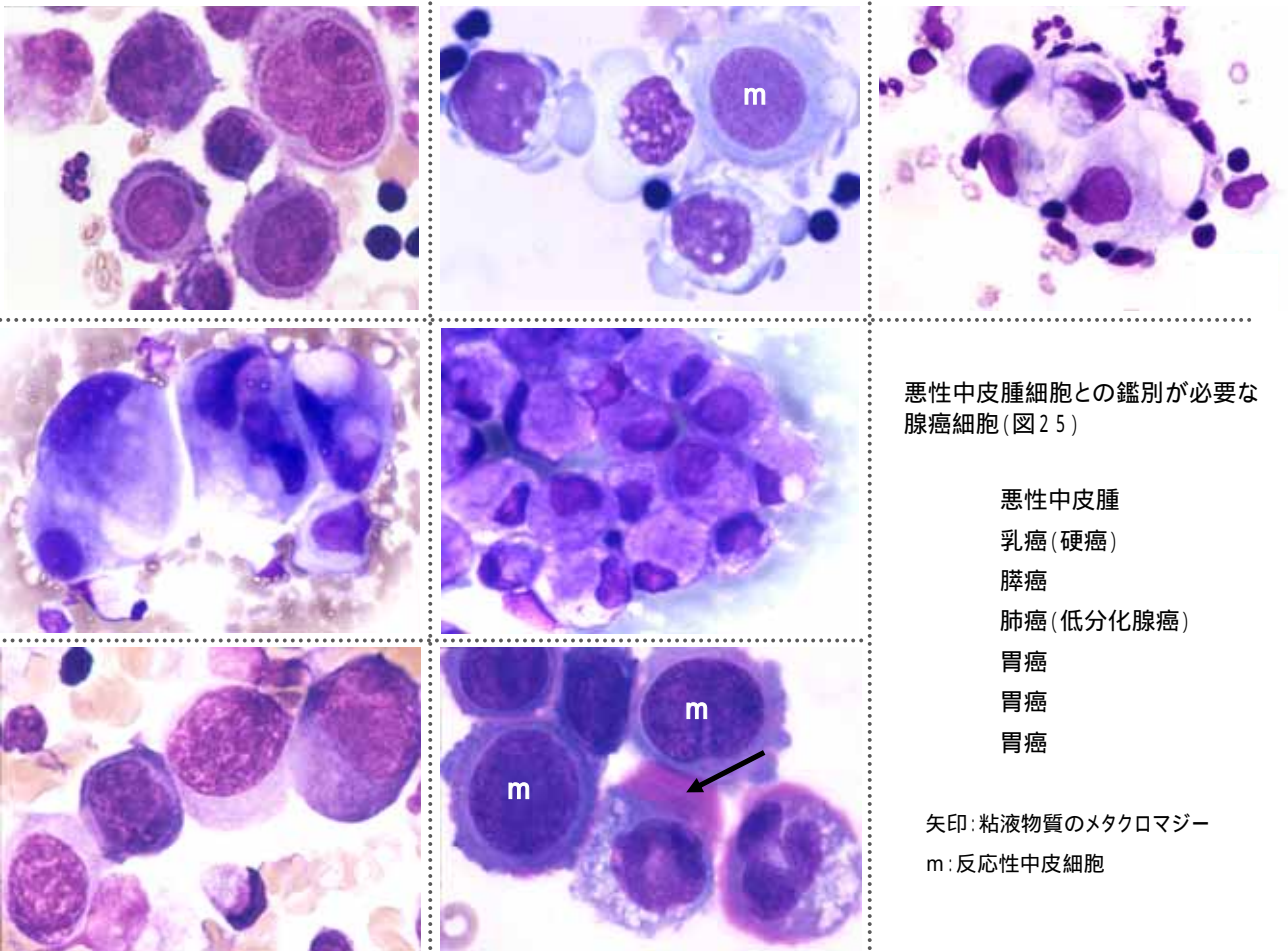
反応性中皮細胞(左)と悪性中皮腫細胞(右)の鑑別:左右とも×1000 (図23)

・悪性中皮腫細胞の核内は、反応性中皮細胞に比し比較的明るく、大型の核小体が目立つ



悪性中皮腫細胞の特徴(図24)

・円形の2核細胞が目立ち、瘤状細胞質突起(hump: 矢印)を有する



悪性中皮腫細胞との鑑別が必要な腺癌細胞(図25)

- 悪性中皮腫
- 乳癌(硬癌)
- 膀胱癌
- 肺癌(低分化腺癌)
- 胃癌
- 胃癌
- 胃癌

矢印: 粘液物質のメタクロマジー
m: 反応性中皮細胞

ギムザ染色による細胞像鑑別のポイント

	反応性中皮細胞	悪性中皮腫細胞	腺癌細胞
細胞質	全体的に好塩基性	核周囲が明るく辺縁は塩基性	淡明化、粘液様空胞+
細胞質突起	やや小型の突起(blister)	瘤状細胞質突起(hump)	低分化型で時に出現
核所見	単核~多核	2~10核(2核が目立つ)	単核、円形~類円形
核位置	中心~偏在	中心~偏在	偏在性(merge)
核小体	不整樹枝状	円形~類円形	円形~類円形
クロマチン	細顆粒+粗顆粒	細顆粒状	粗顆粒+粗網状



免疫細胞化学染色（以下、免疫染色）は細胞診の分野においても応用されており、その補助的診断価値が高いことは言うまでもない。体腔液細胞診においては、腫瘍細胞の形質、組織型の推定や原発巣推定、細胞の増殖能や悪性度評価、ウイルスなどの病原体の検索にも用いられている。

ここでは一般的な染色手技と注意点について述べる。

1．塗抹標本の作製

剥離防止剤でコートされたスライドガラスを用いることが望ましい。

2．固定法

一般的に、細胞診材料を用いる免疫染色には、エタノールによる湿固定標本が用いられる。未染色標本はアルコール固定液中で2週間程度保存可能とされている。長期保存する場合は未染標本を脱水し、透徹後、封入保存するとよい。また、既存のパパニコロウ染色標本でも、抗原は長期にわたり保持されており、免疫染色に応用可能である。ただし、ギムザ染色標本やPAS反応後の標本では、乾燥や過ヨウ素酸処理による影響で、検出する抗原の種類によっては抗原性の減弱や失活もあり得るので、注意を要する。

3．抗原賦活化

アルコール固定では、ホルマリン固定にみられる強固な蛋白質の架橋反応は生じないため、酵素処理や熱による抗原賦活化は不要と考えられてきた。しかし核内抗原などの検出には、クエン酸緩衝液(0.01M, pH6.0)を用いた加熱による抗原賦活化が有効なことがある。ただし、過度の熱処理は細胞変性を起こし、偽陰性化を惹き起こすこともあるので注意が必要である。

4．内因性ペルオキシダーゼ活性阻止操作

ペルオキシダーゼ標識抗体を用いる場合には、一次抗体を反応させる前に、0.3～3.0%の過酸化水素水あるいは過酸化水素加メタノールで5～30分間処理を行い、内因性ペルオキシダーゼ活性や赤血球中に含まれる偽ペルオキシダーゼ活性阻止操作を行う必要がある。アルコール固定標本では、ホルマリン固定標本に比べその活性が高く、赤血球や好中球、好酸球の多い標本などでは、反応操作中発泡することもあり、剥離防止剤でコートされたスライドガラスの使用が有用である。

5．一次抗体

基本的にはホルマリン固定組織切片での免疫組織化学的検索に用いられる一次抗体を使用することができる。ただし、細胞診材料はアルコール固定されていること、また、染色対象である細胞あるいは細胞集塊が立体的で組織切片とは形状が異なるという条件の違いにより、共染が強くなったり、偽陰性化を呈することもある。これらを防ぐためには、組織切片で用いる場合より、一次抗体をさらに2～10倍程度に希釈して使用する、一次抗体の反応時間を調整して適正な条件を決める、などの操作が必要である。

6．検出系

ABC(Avidin-Biotinylate Complex)法、あるいはLSAB(Labelled Streptavidin Biotin)法や、より高感度なデキストランポリマーやアミノ酸ポリマーを用いた間接法などがある。ABC法やLSAB法を用いる場合は、内因性ビオチンの影響について注意する必要がある。またポリマー試薬を用いる検出系では、ABC法に比べ分子量が大きいため、細胞への浸透性が問題になることがある。目的抗原物質が細胞表面、細胞質内あるいは核内抗原のどこに存在するものかによって、検出系の特性を考慮する必要がある。

7. 発色基質

DAB (3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride) や AEC (3-amino-9-ethyl carbazole) 発色が主流である。反応時間は陽性部位の発色の度合いを観察しながら、適宜調整する必要がある。DAB は発ガン性があるので取り扱いに注意しなければならない。手袋などを使用し、廃液は回収を心がける。

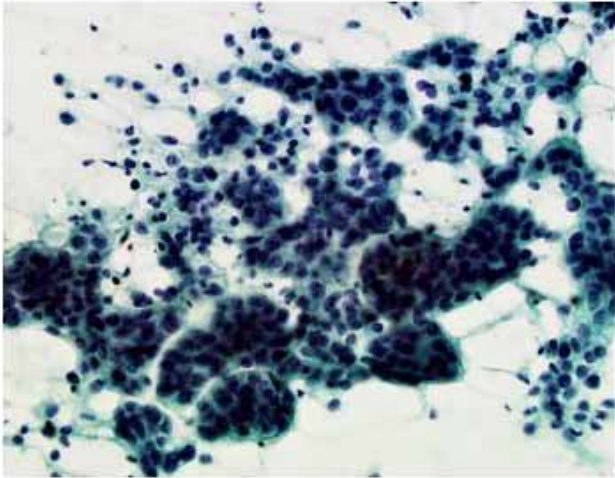
8. 対比染色

核所見を見るために、パパニコロウ染色と同様のギルのヘマトキシリンを用いることが多い。核染色が濃いと陽性反応像が識別しづらくなるので、薄めに染色することがコツである。染色時間は 30 ~ 120 秒程度で十分である。

	手 順	試薬等	時 間
1	固定	95%エタノール	
2	洗浄	水道水	適宜
3	抗原賦活化	クエン酸緩衝液 (0.01M, pH6.0)	98 ~ 121 5分 1
4	洗浄	蒸留水	適宜
5	内因性ペルオキシダーゼ阻害	0.3%過酸化水素加メタノール	5 ~ 30分
6	洗浄	水道水、蒸留水、PBS または TBS	適宜
7	抗原抗体反応	一次抗体	室温 30 ~ 60分 2
8	洗浄	水道水、蒸留水、PBS または TBS	5分 × 3回
9	抗原抗体反応	ポリマー試薬	30分
10	洗浄	PBS または TBS	5分 × 3回
11	発色反応	DAB 反応液	1 ~ 5分 3
12	反応停止	PBS または TBS	
13	洗浄	蒸留水	
14	核染色	ギルヘマトキシリン	30秒 ~ 2分 4
15	洗浄	水道水	適宜
16	分別	塩酸アルコール	適宜
17	色出し	水道水	適宜
18	脱水	100%エタノール	適宜
19	透徹	キシレン、代替キシレンなど	適宜
20	封入	マリノールなど	

(ポリマー試薬を用いた染色手順)

- 1: オートクレーブやマイクロウェーブ、温浴による加温処理を行う。核内抗原などに有効なことがある。
- 2: 細胞集塊や核内抗原を染色する場合は、4 で一晚、反応させる場合もある。
- 3: 過染色は判定に悩むことになるので注意が必要である。顕微鏡下で発色の度合いを観ながら反応を停止させる。
- 4: 対比染色なので、陽性部位の染色強度を考慮しながら、薄めに染色を行う。

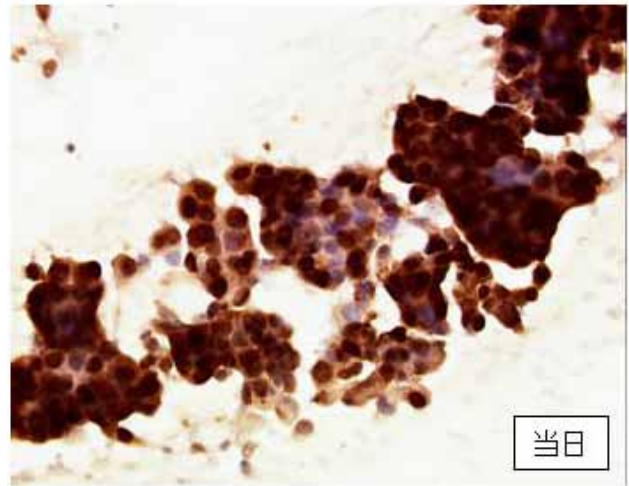


卵巣腫瘍捺印標本(上;パパニコロウ染色.)と p53 抗体の経時的染色性変化(右;免疫染色)

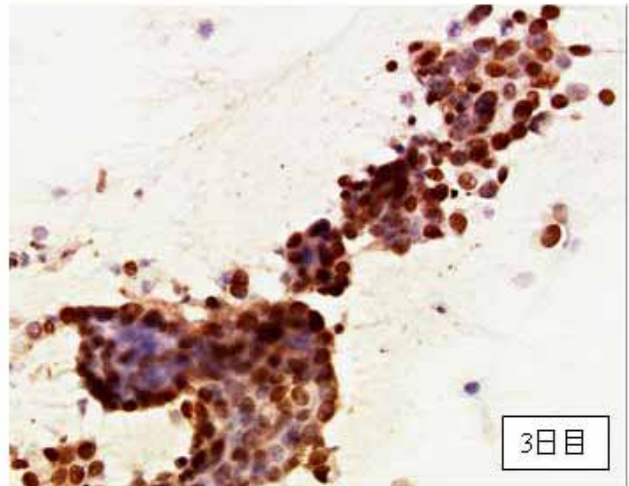
(図26)

近年、組織診同様に、細胞診での免疫染色も、臨床、研究の場を問わず、多く用いられるようになった。しかし、組織標本と同等の安定した免疫染色を行うためには、固定液による抗原性失活も考慮しながら染色を行わなくてはならない。

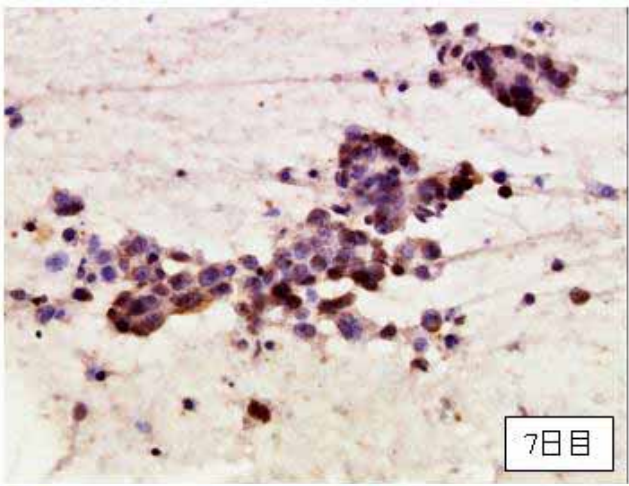
一例として、湿固定時間による染色性の経時的变化をみるため、卵巣腫瘍捺印標本を用いた p53 抗体の染色を行い検討した(図26)。塗抹当日に行った p53 抗体の免疫染色では抗原性の失活はみられないが、湿固定3日目、7日目、14日目と明らかに抗原性の失活が確認できる。湿固定(エタノール固定)さえしていれば常に抗原性が保持されているというわけではないことを理解していただきたい。すべての一次抗体に対し抗原性が失活するものではないが、このようなピットホールを念頭に置きながらの検索が必須である。



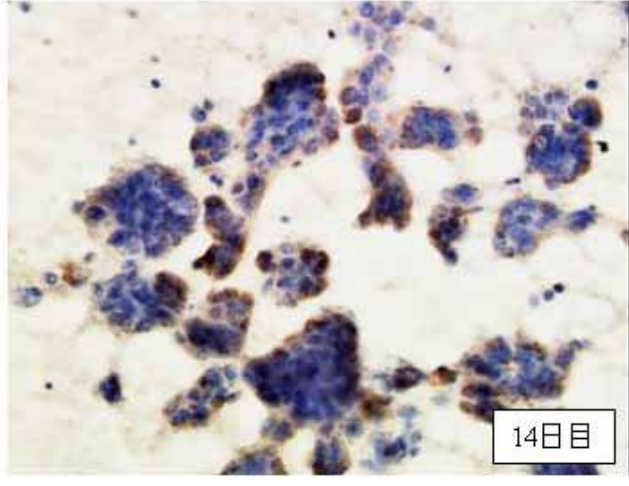
当日



3日目



7日目



14日目

体腔液および体腔洗浄液細胞診の目的は、出現している細胞の良悪の判定だけにとどまらない。免疫細胞化学的染色法（以下、免疫染色）を用いることで、腫瘍マーカーやリンパ球表面マーカー、細胞増殖因子や癌抑制遺伝子産物、細胞骨格フィラメントなどの抗原検索から、組織型推定や原発巣の推定までが可能となってきた。

細胞診材料にて免疫染色を施行する場合、細胞診検体の塗抹材料そのものを用いる封入剤による細胞転写法（別項 参照）がある。細胞転写法は、パパニコウ染色で観察した細胞と同一細胞での免疫染色が可能となる優れた手法ではあるが、細胞診標本を取り崩さなければならず、検索可能な標本枚数にも制約がある。

一方で、細胞塗抹標本作製後に残存する細胞を多様な方法で効率よく収集し、パラフィンなどに包埋するセルブロック法がある。セルブロック法の利点は、塗抹標本では細胞集塊の構築像を十分把握できない場合などに、包埋・薄切といった組織学的手法にて連続細胞薄切片を作製し組織像として観察することが可能となることであり、細胞診の診断補助として応用されてきている。また、包埋された細胞は半永久的に保存可能であり、連続切片を用いた免疫染色をはじめとして、電子顕微鏡的観察法や mRNA ISH (in situ hybridization) や FISH (fluorescence in situ hybridization) などにも応用可能である。

細胞を効率よく収集する手段としては大きく分けて、遠心分離細胞収集法（クロロホルム重層法、ナイロンメッシュを用いる方法、コロジオンバッグ法、クライオバイアルを用いる方法など）と、細胞固定法（寒天やセルロース、アルギン酸ナトリウム、グルコマンナンなどの各種試薬の凝固作用を利用する方法）の2通りがある。

いずれの手法にも手技的な面で多少の短所があるが、効率の良い細胞収集は可能である。ここでは、コロジオンバッグ法とクライオバイアル法を紹介する。

1. コロジオンバッグ法

コロジオンとは、ピロキシリンという硝化度の低い（窒素量 10.5~12.2%）ニトロセルロースをエーテルとエタノールの混合液に溶かしたものであり、我が国ではコロジオンあるいはセロイジンと呼ばれている。コロジオンは液状、板状、繊維状などの状態で市販されており、適当な濃度に希釈して液状として使用する。液状コロジオンは溶媒の蒸発とともに透明で水に溶けない半透明膜になる。遠心管内壁にこの膜を作れば、遠心操作後に沈渣をそのまま包んで取り出せる袋状の構造（コロジオンバッグ）となる。

コロジオンバッグを用いる方法は、これまで一般に知られているセルブロック作製法と本質的に異なる。前処理した遠沈管を準備しておく必要があるが、その用意さえ整っていれば、簡便な手技で、短時間での包埋が可能である。そのため、迅速に検体を固定することができ、細胞の保存性も良い。細胞成分を固める必要がないため固定された検体にも応用でき、日常検査でセルブロックを作製していない施設が他の施設に依頼するときも便利である。また、検体自体に添加物を加えないため、細胞変性が少なく、細胞密度の低下もない。さらに、遠沈した状態のまま、つまり、細胞種類ごとの層形成を保ったまま包埋できるため、目的とする細胞群のみを選択的に高密度で観察できる。これらの理由により、細胞成分がごく微量の検体や硝子体液のセルブロックにも応用できる。ときに包埋時にコロジオンバッグが消失していることがあるが、検体は残っており、切片作製時には問題ない。

1) 遠沈管の前処理

コロジオン（Cedocol：Merck）をエーテル・アルコール（1：1）混合液に約 10% になるように溶かす。

10ml の遠沈管に約 10% コロジオン液を流し込む（図 27）。溶剤が揮発しコロジオン液が粘稠になった場合は、エーテル・アルコール混合液で薄めて使用する。



図 27

すぐにコロジオン液をもとの容器にもどす。
クロロホルムを遠沈管に注ぎ 15 分間以上静置する。
クロロホルムを捨て、70%アルコールを注ぎ 15 分間以上静置し遠沈管の処置を終了する。
遠沈管を保存する場合は、70%アルコール中に浸して保存する（図 28）。

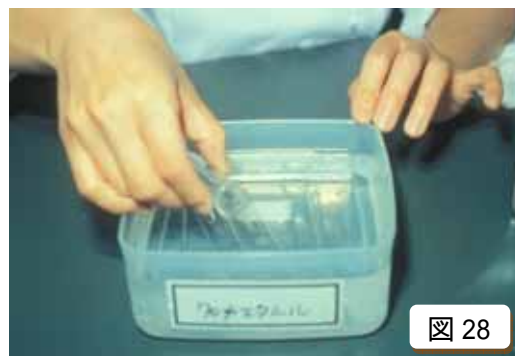


図 28

2) 検体処理

遠沈管内のアルコールを捨てた直後に検体を入れて、1,500rpm、5 分間遠沈する。検体が少量の場合は、固定液を加えてから遠沈してもよい。白濁している遠沈管は破れるので使用しない。

上清を捨て、沈渣に固定液（ホルマリン、ブアン液など）を加え混和後、30 分～1 時間固定する。すでに固定液が加えられている液状検体ではこの操作は必要ない。

再び遠沈し固定液を捨て、遠沈管に付着しているコロジオン膜をピンセットで剥がす。コロジオン膜は遠沈管の形をしたバッグ状（コロジオンバッグ）になっており、沈渣をコロジオンバッグごと遠心管から取り出すことができる（図 29）。この時、バッグ表面が濡れていないと取り出しにくい。



図 29

バッグの上部の余分な部分を切り取り、沈渣が漏れないように沈渣上部のコロジオン膜部をねじり、バッグごと包埋カセットに入れる（図 30）。

組織材料と同様の手順により、アルコール～キシレン～パラフィンへと浸漬。

型どおりパラフィン包埋し、バッグごと薄切し、染色する。



図 30

2. クライオバイアル法

特殊な薬品を用いず、一次抗体などを保存する容器（クライオバイアル）を用いて簡便にセルブロックを作製する方法で、沈渣が多い場合には有効な手段である。切断したクライオバイアルごと脱水・パラフィン浸透させることができるのが、この方法のポイントである。欠点としてはクライオバイアルを、刃物を用いて切断する必要性があり、その手技操作によるケガに注意が必要である。

1) 沈渣の回収

細胞診塗抹標本作製後に残存する沈渣をクライオバイアル（TOHO 社 T311-2 2ml）にキャピラリーにて 0.2ml 程度吸引回収（図 31）。沈渣が多い場合は複数のクライオバイアルに分注する。



クライオバイアル
(TOHO T311-2 2ml)

図 31

2) 遠心と固定

3000rpm. 3 分間遠心分離操作を行って上清を排出後、細胞沈渣を舞い上げないように静かに 10~20% 中性緩衝ホルマリンを注灌し、蓋をする (図 3 2)。



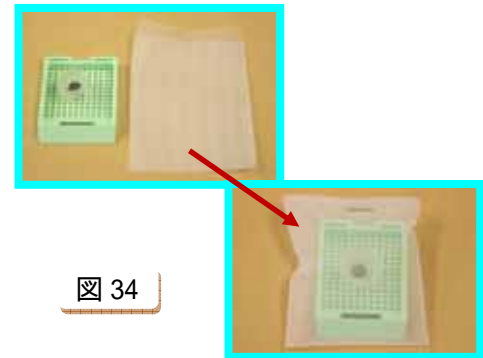
3) クライオバイアルの切断

約 12 時間室温にて静置固定した後、ホルマリンを排出し、カッターナイフやハサミでクライオバイアルを切断する。切断する箇所は、0.5ml の目盛り部を目安とする (図 3 3)。



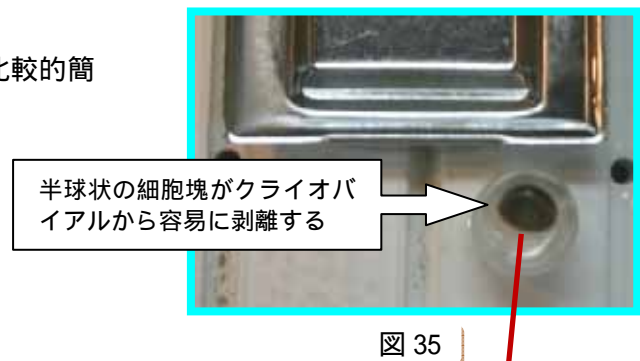
4) 脱水~パラフィン浸透

ホルマリン固定後の沈渣は半球状にほぼ硬化しているが、他の検体とのコンタミネーションを防ぐため、切断したクライオバイアルごとサンプルメッシュパック (栄研器材) に入れホッチキスで封をする (図 3 4) 。その後、型どおり脱水・パラフィン浸透操作に移行する。なお、切断したクライオバイアルの切断口を横に向けた状態でセットし、薬液の浸透をスムーズにする。



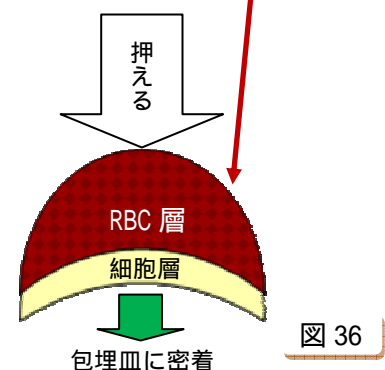
5) 細胞塊の取り出し

脱水・パラフィン浸透後、半球状の細胞塊は比較的簡単にクライオバイアルから離脱する (図 3 5) 。



6) 包埋

ピンセット等にて細胞塊を取り出し、バフィコート部分を包埋皿の底面に軽く押しつけるようにして包埋する (図 3 6) 。パラフィン包埋ブロック作製後、目的に応じて連続切片を作製することができる。



1. 細胞転写法とは

細胞転写法とは、プレパラート上に塗抹された材料を 1 枚のシートとして剥離し、免疫染色など種々の染色を行うために、標本上の検体を分割して別のプレパラート上へと再貼付する方法である。

2. 細胞転写の手技

1) 目的細胞のマーキング

標本を鏡検し、免疫染色などを行いたい目的細胞にマークを付ける(図37)。次に、標本を裏返しにし、ガラスペンでそのマークを囲むようにスライドガラスの裏面に円形のキズを付ける。

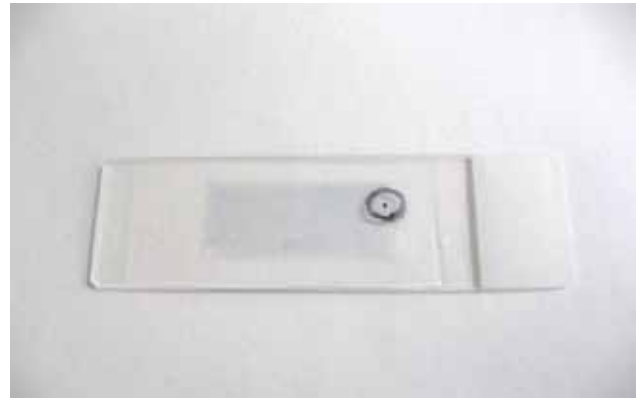


図 37

2) カバーガラスの除去

キシレンに浸してカバーガラスを除去する。この作業に費やす時間が細胞転写に関わる全体の長さを左右する。古い標本のカバーガラスを剥がす時や、至急に免疫染色を行いたい時は、カバーガラスの剥離に要する時間を短縮する目的でカバーガラスにガラスペンで傷を付けキシレンを浸透しやすくする。また、キシレンの温度を 50 ~ 60 にすることも効果的である。

3) 封入剤の塗布・硬化

標本の塗抹面がキシレンに濡れている状態で、塗抹面に封入剤を約 0.5 ~ 1ml 塗布する(図38)。その後、封入剤を硬化させるためスライドガラスを水平に保った伸展器の上に置き、37 ~ 50 にて一晩、封入剤の硬化を待つ。細胞転写には、一般的に Mount-Quick (大道産業株式会社) とマリノール (粘度 550cps、武藤化学株式会社) が有用である(文献 22 参照)。マリノールは室温でも 6 ~ 12 時間で硬化する。2 倍希釈したマリノールを用いると、封入剤を薄く塗布することができるので硬化時間を短縮できる。



図 38

4) 目的細胞の再マーキング

スライドガラスの裏面に記したガラスペンのマークをなぞるように、硬化した封入剤の表面に油性マジックでマークをつける。細胞転写が失敗する最大の原因は、小さな材料を別のスライドガラスに貼り付ける際、細胞付着面が肉眼ではわかりにくく、反対面を貼付してしまうことである。そのため、転写時に裏表を間違えないために、印の中に上下左右非対称の文字、たとえば「あ」・「う」のような文字を書きしておくことが非常に重要である(図39)。



図 39

5) 封入剤の軟化

45～50 の温水中に2～3時間浸し、封入剤を軟化させる。マリノールの場合は、水道水などの中に約30分間浸しても封入剤が軟化する（水温を高くするとさらに軟化が速くなる）。

6) スライドガラスからの剥離

封入剤の端にカッターナイフの刃を差し込むと封入剤が塗抹された細胞と共に捲れてくるので、細胞診材料が塗抹されていない部分をピンセットで持ち上げ、スライドガラスから剥がしていく（図40）。この時塗抹された細胞は封入剤の裏面に包埋されており、プレパラートからほぼ完全に剥離されている。



図 40

7) トリミング

次にやや大きめの別のスライドガラスの上に載せ、目的とする細胞が存在するマーキング部分をカッターナイフやハサミを用いて切り抜く（図41）。マーク内に目的とする細胞がいくつもある場合は、それをさらに細分することも可能で、お互いが0.6mm以上離れていれば細分し、別々に転写することは可能である。なお、転写元のスライドガラスは普通のスライドガラスであれば問題ないが、剥離防剤でコートされたスライドガラスでは剥離できない場合がある。



図 41

8) 貼付・伸展・乾燥

切り取った小片を50の温浴層で伸展しながら、別のスライドガラス上に載せる（図42）。この時、標本とスライドガラスの間に気泡が入らないように注意する。気泡は標本の剥離や染色不良の原因となる。伸展器で一晩、十分に乾燥させ、細胞転写が終了する。なお、必要な箇所を切り抜いた残りの部分は、保存用として同様に50の温浴層で伸展し、別のスライドガラスに載せ、伸展器で乾燥させる。その後、キシレンにて封入剤を溶かして再封入する。もし、退色していれば脱色後再染色することも可能である。



図 42

【参考文献】

- 1) 日本胃癌学会編．胃癌取扱い規約．東京：金原出版，1999
- 2) 日本臨床細胞学会編．胃癌腹腔洗浄細胞診のガイドライン．日臨細胞誌 2001；40：93-98
- 3) 海老原善郎，亀井敏昭 監修．体腔液細胞診アトラス．篠原出版新社，2002
- 4) 渋田秀美，他：腹腔洗浄細胞診における標本作製法の検討．日臨細胞誌 2003；42：462-469
- 5) 亀井敏昭，他：悪性中皮腫の体腔液細胞診．病理と臨床 2004；22：693-700
- 6) 三宅康之，他：迅速細胞診の新しい試み，臨床検査増刊号，細胞診 21 世紀への展望．東京：医学書院，2000：1255-1258
- 7) 辻下亜紀子，他：フィルター孔径の違いによる操作性および集細胞率の検討 特に尿細胞診検体を用いて．日臨細胞誌 1997；36：458-45
- 8) 大河戸光章，他：髄液細胞診におけるメンブレンフィルター法(FIL CUP Super)の有用性について．日臨細胞誌 1999；38：305-311
- 9) 羽原利幸，他：術中迅速腹腔細胞診 標本作製法及び検索法に関する検討．臨床検査．2002，46：1041-1044
- 10) Catherine Keebler. Comprehensive Cytopathology. Mar Luce Bibbo. Philadelphia：W.B. SAUNDERS COMPANY 1991；881-906
- 11) Koss,L.G. Woyke,S. Olszewski,W. Aspiration Biopsy：Cytologic Interpretation and Histologic Bases. New York：Igaku-Syoin 1984；11-17
- 12) 渡辺明朗：普通染色（ギムザ・ロマノウスキー染色）の基礎，寺田秀夫監修，血球カラーアトラス，武藤化学株式会社，2001,71-76
- 13) 西 国広：迅速細胞診におけるギムザ染色の活用～体腔液～，Medical Technology, 30,医歯薬出版, 2002,813-822
- 14) 西 国広：細胞診断におけるパバニコロウ染色，ギムザ（メイギムザ）染色の利点と欠点，Medical Technology, 33, 医歯薬出版, 2005,88-92
- 15) 西 国広：形態検査におけるギムザ染色の応用とそのコツ～1.ギムザ染色の基礎と応用，Medical Technology,2008, 36:452-458
- 16) 畠山重春，他：液状検体よりのセルブロック標本の作り方．Medical Technology．1999，27：613-618
- 17) 板東美奈子，他：コロジオンバッグを用いたセルブロック作製法．臨床検査．1994，38：1335-1338
- 18) 三宅康之，他：胸腹水におけるコロジオンバッグを用いたセルブロック組織診の意義．臨床検査．1997，41：595-597
- 19) 伊藤 仁，他：セルブロック作製法と病理，細胞検査への応用．検査と技術．2002，30：1387-1390
- 20) 濱川真治，他：クライオバイアルを用いた簡易セルブロック法．病理技術．2004，43：534
- 21) 牛島友則：細胞診断および免疫染色に有用な cell block 標本作製法．検査と技術．2005，33：19-26
- 22) 三宅康之，他：免疫細胞化学染色のための細胞転写法．病理と臨床 2005, 23:622-628

【体腔液マニュアル作成協力者】

西 国広（株式会社エスアールエル 福岡ラボラトリー）
國實久秋（獨協医科大学越谷病院 病理部）
渋田秀美（山口県立総合医療センター 中央検査部病理検査室）
羽原利幸（公立学校共済組合 中国中央病院 臨床検査科）
濱川真治（公立昭和病院 検査科）
藤田 勝（岡山大学病院 医療技術部/病理）
丸川活司（北海道大学病院 診療支援部/病理）

【検討協力者】

柿沼廣邦（北里大学病院 病院病理部）
服部 学（北里大学 医療衛生学部 臨床細胞学研究室）

【学術編集担当者】

三宅康之、是松元子、伊藤 仁、小林忠男

【協力】

サクラファインテックジャパン株式会社

【表紙写真の説明】

悪性中皮腫のCT像（左上）・細胞像（左下）・肉眼像（右下）およびアスベスト小体（右上）



細胞診標本作製マニュアル（体腔液）

2008年8月1日発行 第1版 第1刷

発行者 細胞検査士会

本書の内容を無断で複写・複製・転載すると、著作権・出版権の侵害となることがありますので御注意下さい。