

体腔液を想定した人工液状検体における形態学的細胞変性に影響を与える 要因についての一考察

矢野 哲也¹⁾ 小野崎 桜²⁾ 関野 仁美³⁾
岸 美帆⁴⁾ 内山 雅之⁵⁾ 安藤 克己¹⁾

Morphological cell degeneration in liquid samples for cytopathology

Tetsuya Yano¹⁾, Sakura Onozaki²⁾, Hitomi Sekino³⁾,
Miho Kishi⁴⁾, Masayuki Uchiyama⁵⁾, Katsumi Ando¹⁾

要旨

細胞診検査では検体の処理開始まで細胞変性をできるだけ阻止すべく検体採取後の標本作製を迅速に行うことが推奨されている。しかし、臨床の現場ではすべての検体搬送を迅速に行うことは難しく、検体処理までに一定の時間経過を見込まなくてはならない。そこで本研究では、ブタ肝細胞を用い、リン酸緩衝液を浮遊液とした人工液状検体を作製し、浸透圧、pH、時間、温度、アルブミン添加などによる影響を形態学的に観察した。浸透圧では0.1mol/Lで最も変性が少なく、pH(6.0～7.6)による影響はほとんどみられなかった。4℃では1時間まで変性はなく、5%アルブミン添加では、4℃で4時間まで変性所見はみられなかった。検査室への検体到着後、すぐに処理が開始できない場合、冷蔵保存し、可能であれば5%程度にアルブミンを添加すると細胞変性を最小限に抑えられる可能性が示唆された。

キーワード: 細胞診、液状検体、細胞変性、パパンニコウ染色

Keywords: Cytopathology, Liquid sample, Cell degeneration, Papanicolaou stain

1. はじめに

細胞診検査で扱う検体は、採取直後にスライドグラスに塗抹され迅速にアルコール固定されるものから、体腔液や尿などのように液状検体として検査室へ搬送されてから処理、固定されるものまで、検体によって様々な標本作製が行われる。液状の検体については、細胞採取から検体処理までの間に、経過時間や保存の状態により種々の程度に細胞変性が起こり、その形態学的変化による診断への影響が懸念される。関連学会などで

は、採取後直ちに検査室へ搬送し速やかな標本作製を行うことを推奨しているが^{1,2)}、実際には臨床側の業務の多忙さや理解不足により、速やかな検体搬送が難しい現状があり、検体処理が開始されるまでに少なくとも30分はかかっているのではないかと推測される。

また、採取後の経過時間や保存方法による細胞の形態学的変化についての検討は臨床検体を用いることが多く³⁾、新鮮な細胞から何が起因となってどのように形態学的な変化に繋がるのかについての詳細な検討は行われていない。

1) 埼玉県立大学保健医療福祉学部健康開発学科

2) 国分寺病院検査科

3) 三郷市医師会

4) 埼玉県立がんセンター検査技術部

5) 埼玉県立大学大学院保健医療福祉研究科

1) Department of Health Sciences, School of Health and Social Services, Saitama Prefectural University

2) Department of Clinical Laboratory, Kokubunji Hospital

3) Misato Medical Association

4) Department of Clinical Laboratory, Saitama Cancer Center

5) Graduate Course of Health and Social Services, Saitama Prefectural University

原稿受付日: 2022年8月6日 採択日: 2023年2月6日

そこで本研究では、新鮮臓器の購入が容易で、変性の少ない細胞を採取可能なブタ肝臓を用い、人工の液状検体を作製し、種々の条件における細胞変性の形態学的観察を行い、どのような条件が変性に影響を与えるのか検討を行った。哺乳動物の浸透圧⁴⁾や体腔液検査における一般的なpH値⁵⁾などを参考に、浸透圧、pHの条件を設定し、実際の検体搬送や保存方法を想定した温度、経過時間などについて形態学的な変化を検討した。また、アルブミン添加による細胞の保存性の向上^{1,3)}がどの程度あるのか、その濃度や保存温度、保存時間についても検討を行った。

2. 対象および方法

1) 液状検体の作製

市販のブタ肝臓（東京芝浦臓器で購入後、一晚4℃保存）の新鮮な肝臓断面をブラシで擦過し、擦過物を遠沈管中の細胞浮遊液（15mL）に浮遊させ液状検体とした。また、元の細胞の状態を確認するため、肝臓断面のブラシ擦過による直接塗抹標本作製した。次項の(1)～(4)でそれぞれ異なる個体の肝臓を用いた。

2) 細胞浮遊液の条件変化

(1) 浸透圧による変化

哺乳動物の浸透圧を参考に⁴⁾、pH7.4のリン酸緩衝液を用い、0.01mol/L、0.05mol/L、0.1mol/L、0.2mol/L、0.5mol/L、1.0mol/Lと濃度を6段階に調整し細胞浮遊液とした。細胞を各浮遊液に採取し、室温（約25℃）で30分静置後、標本作製を行った。

(2) pHによる変化

0.1mol/Lリン酸緩衝液を用い、一般的な体腔液のpH値を参考に⁵⁾、pH6.0、6.5、7.0、7.2、7.4、7.6と6段階に調整し細胞浮遊液とした。上記と同様に細胞を採取し、室温で30分静置後、標本作製を行った。

(3) 温度、時間による変化

0.1mol/L、pH7.4のリン酸緩衝液を用い、4℃、室温、37℃で、30分、1時間、2時間、24時間静置後、標本作製を行った。

(4) アルブミン添加による影響

0.1mol/L、pH7.4のリン酸緩衝液を用い、1%、3%、5%、7%、10%のアルブミン添加について、4℃、室温で、30分、1時間、2時間、4時間、24時間静置後、標本作製を行った。

3) 標本作製法

(1)～(4)の各条件の細胞浮遊液を遠心（1500rpm、5分間）し、バフィーコートを採取、スライドガラスに滴下後すり合わせ法で展開し、95%アルコールで15分以上固定し、以下の条件でパパニコロウ染色を行った。ギルのヘマトキシリン（武藤化学、2倍希釈）1分、OG-6（武藤化学）1分、EA-50（武藤化学）3分。

4) 細胞形態の観察

各条件のパパニコロウ染色標本中の肝細胞について核、細胞質の染色性や性状について光学顕微鏡にて観察を行った。また、30細胞について核および細胞の長径（ μm ）を測定し（Nikon Eclipse E600, DS-L3）比較検討した。フリードマンの検定を用い統計学的解析を行い、 $p=0.05$ 未満を有意差ありとした。

5) 倫理的配慮について

本研究は市販されているブタ肝臓を用いており倫理審査を受けていない。

3. 結果

ブラシ擦過後直接塗抹標本では細胞変性による形態学的な変化はみられなかった。

1) 浸透圧による変化

光学顕微鏡観察では、浸透圧が高くなるに従い、核の濃縮傾向、細胞質の濃染傾向がみられ、0.01mol/Lでは泡沫状の細胞質や部分的な細胞膜の破綻がみられた。0.1mol/Lにおいて直接塗抹標本と類似した細胞像となった（図1）。核の長径については、浸透圧が高くなるに従い小さくなるが、0.05mol/Lと0.1mol/Lではほぼ同値となった。細胞の長径では、浸透圧が高くなるに従い平均値は小さくなり、統計学的有意差がみられた。（表1）。

2) pHによる変化

pH6.0～7.6の間では、核、細胞の長径について統計学的有意差がみられたが、核や細胞質の染色性なども含め、pHに依存した明らかな形態学的変化はみられず、前項0.1mol/Lの細胞像と同様であった。（表2）。

3) 温度、時間による変化

4℃では、2時間から一部の細胞の核クロマチンに軽度な融解がみられ、24時間で核の濃縮や核クロマチ

ンの融解、細胞質の泡沫化や細胞膜の破綻がみられた。室温では、1時間から核クロマチンの融解が出現し、24時間では核の消失や細胞質の泡沫化がみられた。37℃では、30分より一部の細胞の核クロマチンの融解、細胞質の泡沫化、一部の細胞で細胞膜の破綻がみられ、時間とともに核や細胞質、細胞膜の変化が高度になり、24時間では核の消失や細胞質の肥厚など、細胞変性が高度となった(図2, 3、表3)。また、核の長径について30分、1時間、2時間で統計学的有意差がみられたが、細胞の長径では有意差はみられなかった(表4)。

4) アルブミン添加による影響

4℃では、1%、3%、5%のアルブミン添加で、4時間まで明らかな変化はみられず、24時間で核の消失や濃縮、細胞膜の変化がみられたが、5%で最も変性が軽度であった。7%添加の2時間以降と、10%添加では、細胞質に好酸性(オレンジ色)の変化がみられ、10%添加の2時間以降では一部の細胞で核の濃縮がみられた(図4、表5)。核、細胞の長径では、1時間以降で統計学的有意差がみられ、10%アルブミン添加の4時間以降で、核、細胞ともに小さくなる傾向がみられた。室温では、1%、3%のアルブミン添加、1時間以降

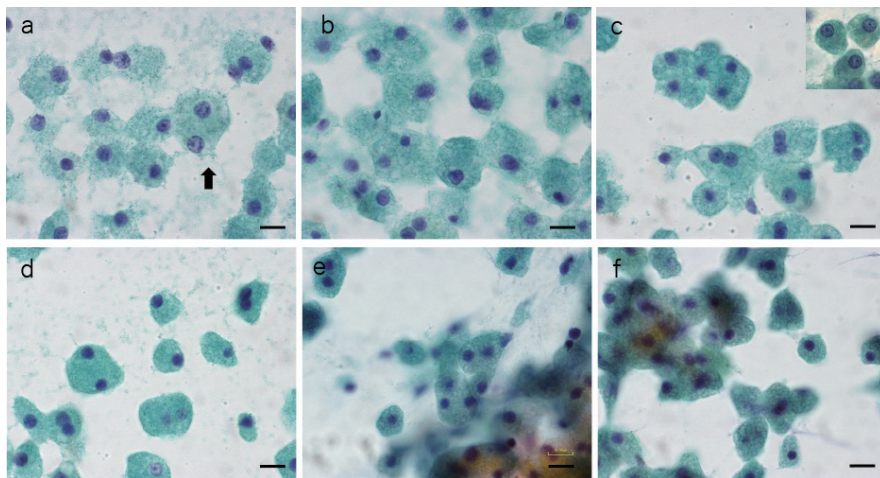


図1 各浸透圧におけるパニコロウ染色像(pH7.4リン酸緩衝液)
 (a) 0.01 mol/L、(b) 0.05 mol/L、(c) 0.1 mol/L、右上挿入図は直接塗抹標本、(d) 0.2 mol/L、(e) 0.5 mol/L、(f) 1.0 mol/L、倍率:×1000、スケールバー:10μm。浸透圧が高くなるに従い、核の濃縮傾向、細胞質の濃染傾向がみられる。aでは泡沫状の細胞質や部分的な細胞膜の破綻(矢印)がみられる。dより高浸透圧で核の濃縮傾向が強くなり、e、fでは細胞の明らかな収縮が観察される。

表1 各浸透圧におけるブタ肝細胞の核、細胞の長径(μm)

浸透圧 (mol/l)	0.01	0.05	0.1	0.2	0.5	1	直接塗抹	p値
核 (n=30)	6.62±0.62	5.86±0.78	5.87±0.68	5.47±0.63	4.96±0.64	4.68±0.68	5.82±0.64	3.05×10 ⁻¹⁴
細胞 (n=30)	21.3±4.60	20.74±4.33	19.85±3.84	18.81±3.49	15.87±3.09	15.23±2.63	20.01±3.61	1.90×10 ⁻¹⁰

※平均値±SD, フリードマンの検定

表2 各pHにおけるブタ肝細胞の核、細胞の長径(μm)

pH	6.0	6.5	7.0	7.2	7.4	7.6	直接塗抹	p値
核 (n=30)	4.60±0.62	4.54±0.59	5.08±0.70	4.67±0.58	4.43±0.56	4.69±0.76	5.16±0.72	6.38×10 ⁻³
細胞 (n=30)	17.27±2.79	15.28±2.16	17.9±3.42	17.27±3.08	16.81±3.41	19.85±4.19	17.97±2.45	2.03×10 ⁻³

※平均値±SD, フリードマンの検定

で一部の細胞で核の濃縮やクロマチンの融解など、核に変化がみられた。5%では、2時間以降から同様の変化がみられた。1～5%添加、24時間では細胞膜の破綻など細胞質の変性がみられた。7%添加、2時間以降と10%添加では、一部細胞の核の濃縮や細胞質の好酸性変化がみられた(図5、表5、表6)。

4. 考察

本研究では、細胞診検査において想定される液状検体中の細胞が、どのような条件下で形態学的変化を示

し診断に影響を与える可能性があるのか、アーティファクトの少ない新鮮なブタ肝細胞を用い基礎的な検討を行った。

哺乳動物の浸透圧は平均で約300mOsm/Lといわれる⁴⁾。細胞内小器官の形態学的保存が必須となる電子顕微鏡学的検索では、固定液の浸透圧を約400～500mOsm/Lにすることが経験的に知られており、若干高浸透圧側に設定されている。しかし、通常の病理組織検査や細胞診検査では、細胞内の微小構造を観察することはなく、固定液の浸透圧を意識することは少ない。今回、細胞浮遊液として使用したリン酸緩衝液

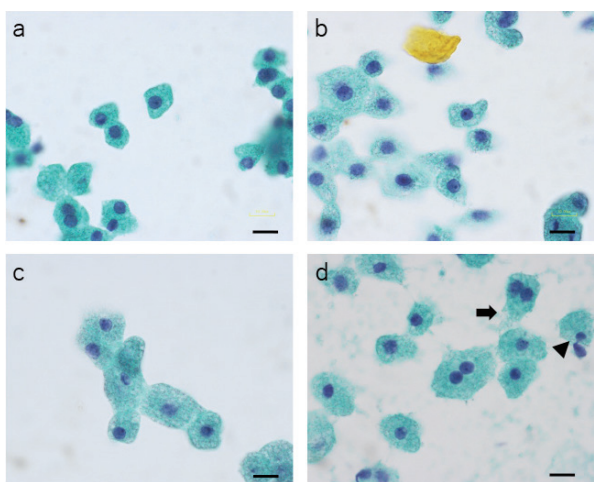


図2 4°C保存のパパニコロウ染色像(0.1 mol/L, pH7.4) (a) 30分、(b) 1時間、(c) 2時間、(d) 24時間、倍率: ×1000、スケールバー: 10μm。dでは、核の濃縮(矢頭)や核クロマチンの融解、細胞質の泡沫化や細胞膜の破綻(矢印)がみられる。

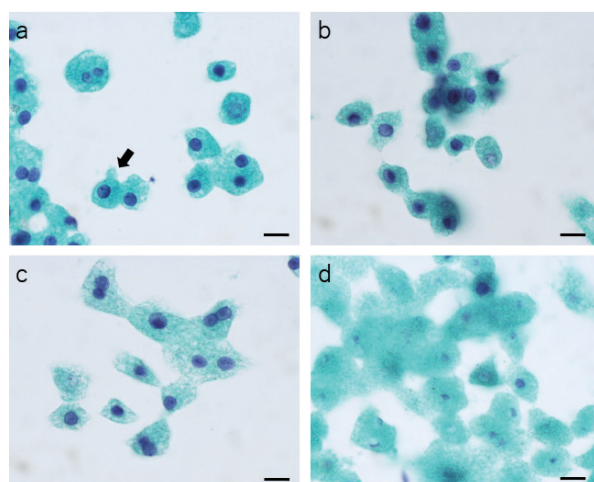


図3 37°C保存のパパニコロウ染色像(0.1 mol/L, pH7.4) (a) 30分、(b) 1時間、(c) 2時間、(d) 24時間、倍率: ×1000、スケールバー: 10μm。aより細胞質の泡沫化、一部の細胞で細胞膜の破綻(矢印)がみられ、時間とともに核や細胞質、細胞膜の変化が高度になり、dでは核の消失や細胞質の肥厚など細胞変性が高度となっている。

表3 各温度、時間における細胞所見

	30分	1時間	2時間	24時間
4°C	変化なし	変化なし	核: 一部クロマチン軽度融解	核: 一部濃縮、クロマチン融解 細胞質: 泡沫化、細胞膜破綻
室温	変化なし	核: 一部クロマチン融解	核: 一部濃縮、一部クロマチン融解	核: 多くで消失 細胞質: 泡沫化
37°C	核: 一部クロマチン融解 細胞質: 泡沫化、一部細胞膜破綻	核: 一部クロマチン融解 細胞質: 泡沫化、一部細胞膜破綻	核: 一部濃縮、一部クロマチン融解 細胞質: 泡沫化、一部細胞膜破綻	核: 多くで消失 細胞質: 肥厚、細胞境界不明瞭

表4 各温度、時間における核、細胞の長径 (μm)

核 (n=30)	30分	1時間	2時間	24時間
4°C	5.55 ± 0.74	5.18 ± 0.78	4.92 ± 0.89	5.65 ± 1.26
室温	4.68 ± 0.76	4.97 ± 0.81	4.48 ± 1.01	計測不能
37°C	5.70 ± 0.90	6.55 ± 0.72	5.29 ± 0.98	計測不能
P値	1.25×10^{-3}	1.10×10^{-6}	0.02	—

※直接塗抹 5.88 ± 0.94, 平均値 ± SD, フリードマンの検定

細胞 (n=30)	30分	1時間	2時間	24時間
4°C	14.61 ± 2.05	16.76 ± 2.17	13.46 ± 3.03	15.29 ± 2.46
室温	15.30 ± 2.36	15.94 ± 2.69	15.02 ± 2.35	15.07 ± 3.07
37°C	15.06 ± 2.19	17.94 ± 3.93	13.19 ± 2.77	計測不能
P値	0.28	0.23	5.03×10^{-2}	—

※直接塗抹 17.90 ± 2.09, 平均値 ± SD, フリードマンの検定

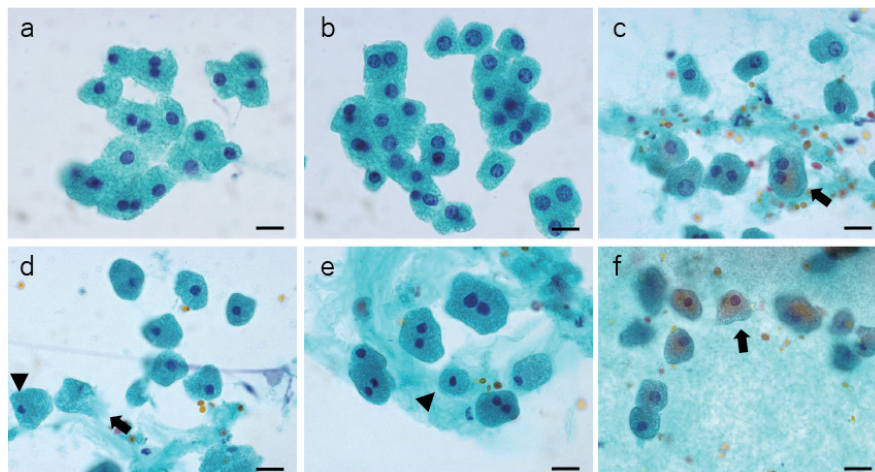


図4 4°C保存の各アルブミン添加量におけるパパニコロウ染色像

(a) 1%アルブミン添加、30分、(b) 5%アルブミン添加、30分、(c) 10%アルブミン添加、30分、(d) 1%アルブミン添加、24時間、(e) 5%アルブミン添加、24時間、(f) 10%アルブミン添加、24時間、倍率: $\times 1000$ 、スケールバー: $10\mu\text{m}$ 。a、bでは特に変化がない。dでは細胞膜の破綻(矢印)や核の濃縮(矢頭)があり、eにおいても一部に核の濃縮(矢頭)がみられる。c、fでは好酸性(オレンジ色)の細胞質の変化がみられる(矢印)。

表5 各アルブミン濃度と温度、時間における細胞所見

	Alb*濃度	30分	1時間	2時間	4時間	24時間
4 °C	1%	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし	核：一部消失や濃縮、クロマチンの融解 細胞質：一部細胞膜破綻
	3%	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし	核：一部消失やクロマチンの融解
	5%	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし	核：一部濃縮
	7%	変化なし	変化なし	細胞質：好酸性変化	細胞質：好酸性変化	細胞質：好酸性変化
	10%	細胞質：好酸性変化	細胞質：好酸性変化	核：一部濃縮 細胞質：好酸性変化	核：一部濃縮 細胞質：好酸性変化	核：一部濃縮 細胞質：好酸性変化
室温	1%	変化なし	核：一部濃縮やクロマチンの融解	核：一部濃縮やクロマチンの融解	核：一部濃縮やクロマチンの融解	核：一部消失や濃縮、クロマチンの融解 細胞質：泡沫化、細胞膜の破綻
	3%	変化なし	核：一部濃縮やクロマチンの融解	核：一部濃縮やクロマチンの融解	核：一部濃縮やクロマチンの融解	核：一部消失や濃縮、クロマチンの融解 細胞質：細胞膜の破綻
	5%	変化なし	変化なし	核：一部濃縮やクロマチンの融解	核：一部濃縮やクロマチンの融解	核：一部消失や濃縮、クロマチンの融解 細胞質：細胞膜の破綻
	7%	変化なし	変化なし	核：一部濃縮 細胞質：好酸性変化	核：一部濃縮 細胞質：好酸性変化	核：一部消失や濃縮、クロマチンの融解 細胞質：好酸性変化
	10%	核：一部濃縮 細胞質：好酸性変化	核：一部濃縮 細胞質：好酸性変化	核：一部濃縮 細胞質：好酸性変化	核：一部濃縮 細胞質：好酸性変化	核：濃縮、クロマチンの融解 細胞質：好酸性変化

* Alb: アルブミン

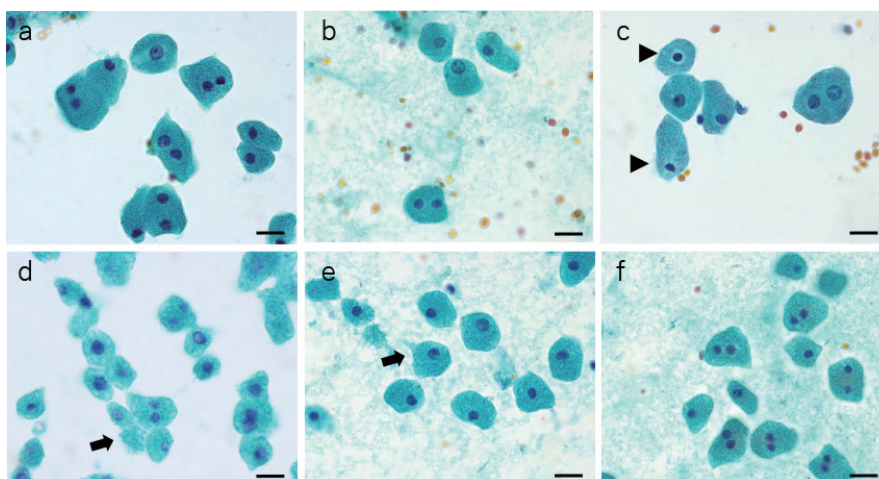


図5 室温保存の各アルブミン添加量におけるパパニコロウ染色像

(a) 1%アルブミン添加、30分、(b) 5%アルブミン添加、30分、(c) 10%アルブミン添加、30分、(d) 1%アルブミン添加、24時間、(e) 5%アルブミン添加、24時間、(f) 10%アルブミン添加、24時間、倍率：×1000、スケールバー：10 μ m。dでは一部の細胞の核が消失し、細胞質の泡沫化がみられる（矢印）。eでは一部の細胞に細胞膜の破綻がみられる（矢印）。c、fでは細胞質の軽度な好酸性変化がみられ、核の濃縮（矢頭）もみられる。

表6 各アルブミン濃度における核、細胞の長径の平均値 (μm)

温度	Alb*濃度	核 (n=30)				
		30分	1時間	2時間	4時間	24時間
4°C	0%	5.38 ± 0.60	4.68 ± 1.06	4.93 ± 0.30	5.23 ± 0.76	4.37 ± 0.53
	1%	5.19 ± 0.51	5.57 ± 0.83	4.78 ± 0.58	5.07 ± 0.68	4.56 ± 0.57
	3%	5.28 ± 0.58	4.77 ± 0.61	4.95 ± 0.34	4.95 ± 0.81	4.53 ± 0.61
	5%	5.51 ± 0.94	4.84 ± 0.89	4.96 ± 0.52	4.64 ± 0.45	4.46 ± 0.67
	7%	5.61 ± 0.77	5.22 ± 0.74	5.45 ± 0.74	5.43 ± 0.74	5.19 ± 0.75
	10%	5.86 ± 0.67	5.41 ± 0.91	5.67 ± 1.06	4.63 ± 0.67	4.69 ± 0.56
	P値	0.06	9.44×10^{-6}	6.70×10^{-5}	2.59×10^{-3}	5.04×10^{-3}
室温	0%	4.13 ± 0.60	4.76 ± 0.62	4.76 ± 0.61	4.62 ± 0.61	4.54 ± 0.52
	1%	4.06 ± 0.81	4.94 ± 0.72	5.05 ± 0.87	4.78 ± 0.74	4.60 ± 0.59
	3%	4.26 ± 0.84	4.87 ± 0.87	5.37 ± 0.61	5.09 ± 0.60	4.22 ± 0.59
	5%	3.90 ± 0.40	4.83 ± 0.98	5.01 ± 0.83	4.67 ± 0.75	4.13 ± 0.68
	7%	4.48 ± 0.84	5.19 ± 0.98	5.45 ± 0.70	4.70 ± 0.82	4.05 ± 0.57
	10%	4.56 ± 0.57	5.09 ± 0.71	4.98 ± 0.57	5.09 ± 0.61	4.61 ± 0.48
	P値	7.12×10^{-3}	0.73	0.02	9.40×10^{-4}	1.48×10^{-3}
温度	Alb*濃度	細胞 (n=30)				
		30分	1時間	2時間	4時間	24時間
4°C	0%	17.06 ± 3.98	19.76 ± 3.97	20.63 ± 4.08	15.90 ± 3.74	19.13 ± 3.77
	1%	18.13 ± 2.58	18.49 ± 2.81	19.93 ± 3.70	18.44 ± 3.66	20.42 ± 3.59
	3%	19.27 ± 3.84	16.08 ± 2.27	17.19 ± 3.05	16.85 ± 2.87	22.24 ± 4.04
	5%	18.48 ± 3.13	16.74 ± 3.58	15.44 ± 3.87	16.68 ± 3.68	17.82 ± 2.70
	7%	17.37 ± 3.25	17.73 ± 3.02	18.59 ± 2.46	18.18 ± 3.47	19.99 ± 3.73
	10%	18.00 ± 2.44	19.63 ± 3.91	19.16 ± 3.35	15.29 ± 2.56	15.64 ± 2.76
	P値	0.40	8.15×10^{-3}	2.30×10^{-5}	6.00×10^{-4}	4.20×10^{-7}
室温	0%	14.68 ± 2.70	17.04 ± 3.32	18.20 ± 2.43	18.96 ± 3.19	17.35 ± 3.69
	1%	15.99 ± 3.25	18.76 ± 2.72	18.20 ± 2.83	18.70 ± 3.41	18.05 ± 3.03
	3%	15.17 ± 3.76	16.97 ± 2.05	20.55 ± 2.88	18.59 ± 3.49	17.45 ± 2.86
	5%	15.13 ± 2.86	15.41 ± 2.14	19.42 ± 2.98	17.81 ± 3.29	14.59 ± 3.56
	7%	15.79 ± 3.17	17.52 ± 2.25	23.08 ± 4.77	17.88 ± 2.54	15.72 ± 2.19
	10%	15.03 ± 2.55	16.87 ± 2.96	17.63 ± 3.64	18.25 ± 3.08	16.33 ± 3.46
	P値	0.54	2.15×10^{-4}	1.50×10^{-6}	0.96	1.96×10^{-3}

* Alb: アルブミン

は0.1 mol/Lで浸透圧が約200mOsm/L、0.2 mol/Lで約400mOsm/Lであり⁴⁾、0.1～0.2 mol/Lの範囲で哺乳動物の浸透圧と等張になると予想されるため、形態学的に影響を受けにくいと推測された。0.01mol/Lでは、核や細胞質の膨化、細胞質の泡沫化や細胞膜の破綻など、細胞変性が高度に観察された。浸透圧が高くなるほどに核や細胞のサイズが小さくなったことで、液状検体の固定前浸透圧は非常に重要であることが分かった。今回、0.1 mol/Lでブラシ擦過後直接塗抹標本と類似した細胞像がえられた。哺乳動物の平均浸透圧300mOsm¹⁾より少し小さい浸透圧が等張であったと推測され、由来組織・細胞によって適切な浸透圧が若干前後すると考えられた。また、胃癌などの手術の際に腹膜播種などを検索する目的で行われる腹腔洗浄細胞診では、腹腔内を生理食塩液(約285mOsm/L⁶⁾)で洗浄している。今回の結果から、用いる溶液として生理食塩液が適していることが裏付けされた。

pHの変化では、通常体腔液でみられるpH6.0～7.6の範囲⁵⁾ではpHに依存した形態学的に有意な傾向がみられなかった。しかし、蛋白質の変性の可能性は否定できないため、特殊染色の染色性や免疫染色の偽陰性化などについても検討する必要があると考えられた。

細胞診検査では、一般的に検体採取後は速やかに検体処理をし、それが困難な場合、冷蔵で保管することが推奨されている^{1,2)}。今回の検討では、4℃においても2時間経過すると核の所見に変化がみられ、室温では1時間で核に変化がみられた。37℃では、30分から変化がみられ、保存温度の高さに依存した細胞変性が確認された。4℃においても長時間の保存は注意を要すると考えられる。また、実際の検査では、経時的に核に早期から変化が起きる可能性を考慮し、核の異型性を判断する必要があると考えられる。

体腔液標本作製のガイドライン¹⁾では、腹腔洗浄液の細胞形態の保存性向上に3%アルブミン添加が有用であるとしている。また、洪田ら³⁾は速やかに処理できない腹腔洗浄液検体について、3%アルブミン添加が細胞形態の保存に有用であり、検体と等量の保存液を混合した場合、室温48時間後でも細胞変性は軽度であったと報告している。今回の結果では、5%の添加が最も形態の保存によく、4℃では24時間で核の軽度な変性を示し、室温では24時間で核、細胞質ともに明らかな変性がみられた。洪田らが検討した中皮細胞と肝細胞

は由来が異なるため、外部環境による変性の程度に差があるかもしれないが、体腔液に出現しやすい腺癌細胞も考慮した場合、室温による長時間の保存は避け、アルブミン添加による冷蔵であっても4時間以内の検体処理を推奨すべきであると考ええる。また、アルブミン添加の濃度が7%を超えると細胞質の好酸性変化がみられた。パパニコロウ染色では、分子量の大きさにより細胞質を染め分ける染色機序⁷⁾があり、細胞質内の構造変化のため、本来ライトグリーン(分子量792.9)によって染色される領域がオレンジG(分子量452.4)によって染色されたものと考えられる。抗体など蛋白質の質的保存性のみを考慮する際、蛋白濃度は高濃度であるほど保存性が向上することが知られている。今回の検討では、高濃度のアルブミン添加による高浸透圧下の条件では、細胞内の蛋白質の高密度化によって、染色結果に影響を及ぼしていることが推察された。

以上より、体腔液細胞診では、すぐに検体処理ができない場合、1時間までの4℃保存とし、5%アルブミン添加であれば、4℃で4時間までを目安とするのが望ましいのではないかと考えられた。

5. 利益相反

本研究における利益相反は存在しない。

6. 引用文献

- 1) 細胞検査士会 細胞診標本作製マニュアル 体腔液. http://www.intercyto.com/lecture/manual/fluid_manual.pdf 2008年8月1日更新. アクセス2022年7月4日.
- 2) 福田利夫. 標本作製の実際とその理論的背景. 坂本穆彦, (編). 細胞診を学ぶ人のために第6版. 東京: 医学書院; 2021: 41-49.
- 3) 洪田秀美, 岡村宏, 亀井敏昭ら. 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 (6) : 462-469.
- 4) 立花利公, 勝又修. 透過電顕試料作製法I—超薄切片法. 日本顕微鏡学会電子顕微鏡技術認定委員会, (編). 電顕入門ガイドブック改訂版. 東京: 国際印刷文献印刷社; 2011: 25-32.
- 5) 石山雅大. 胸水・腹水・心嚢液. 臨床検査. 2016; 60 (5) : 478-489.
- 6) ナースが知っておきたい 栄養の基本と栄養サポートの進め方 Part1 栄養の基礎 4. 体液の分布と浸透圧. <https://www.almediaweb.jp/nutrition/part1/04.html> 2019年1月公開. アクセス2022年8月2日.
- 7) 加戸伸明, 伊藤仁. I病理検査 W細胞診染色 89 パパニコロウ染色. 水口國雄, (編). 染色法のすべて. 東京: 医歯薬出版; 2021: 235-241.