



# 硝子体細胞診

加瀬 諭

北海道大学眼科

2021年7月19日

第47回宮城眼科先進医療研究会

WEB

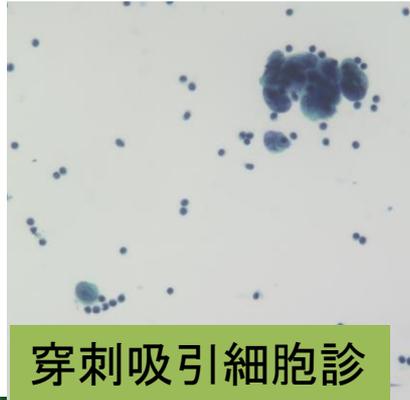
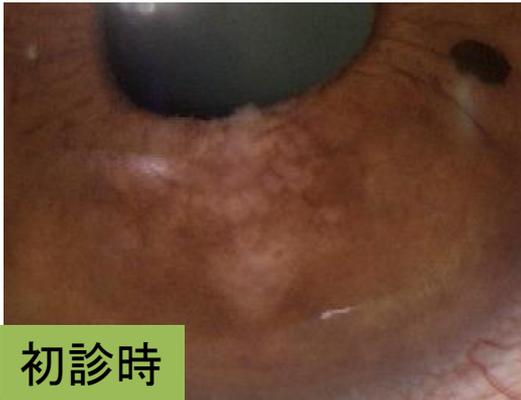


# 利益相反基準

- 該当せず

# 細胞診とは

- 体腔液や組織から細胞を採取し診断する手法
- 組織診断よりも侵襲が低く、診断結果も早い
  - 侵襲度：網脈絡膜生検 >> 硝子体細胞診
- 組織診断より得られる情報は限られる

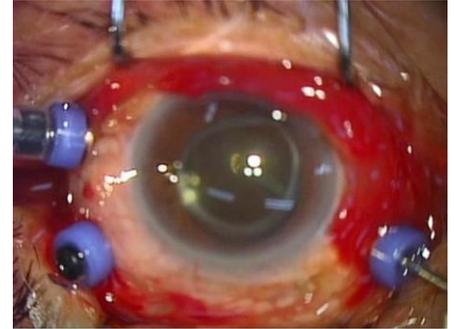


# 硝子体細胞診で何がわかるか

- 硝子体中に存在する細胞の種類、特性、変性が判明
  - 眼底病変を反映
- 炎症細胞、グリア細胞、網膜色素細胞、腫瘍細胞、変性組織
  - 炎症細胞： マクロファージ、リンパ球、好中球、好酸球
  - グリア細胞： Muller細胞
  - 腫瘍細胞： リンパ腫細胞、転移性腫瘍細胞
  - 変性組織： アミロイドーシス

# 硝子体細胞診の適応、手法

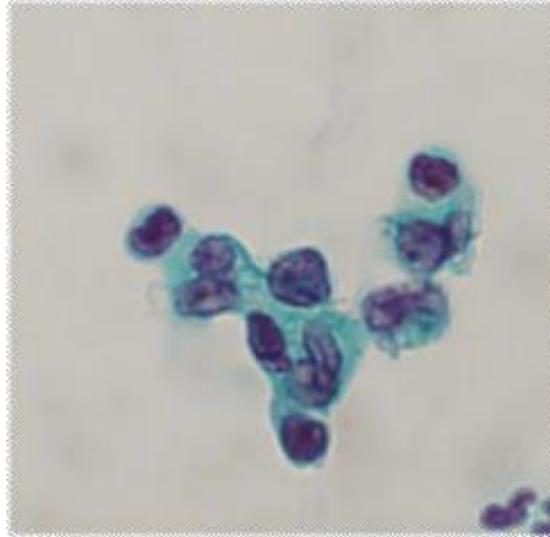
- 適応：原因不明の硝子体混濁・硝子体出血、眼内炎、眼底疾患の病態解明
- ドライ前部硝子体切除：無希釈硝子体液
- Core vitrectomy：硝子体灌流液
- 手法：塗抹細胞診、セルブロック細胞診



# 塗抹細胞診 (1)

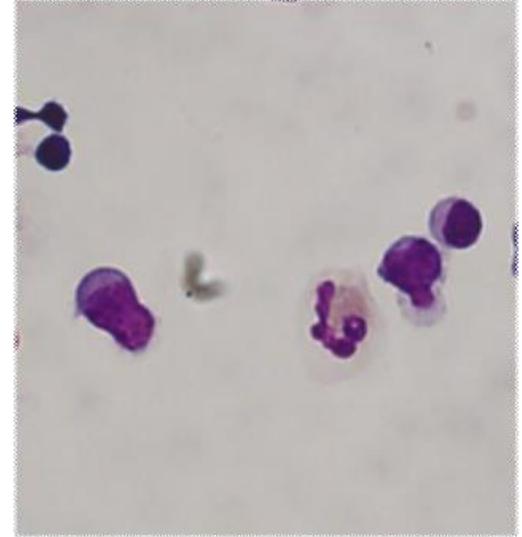
- 古典的な細胞診
- スライドグラスに直接硝子体液を滴下して染色
  - パパニコロウ染色: 乾燥は不可、アルコール固定
  - ギムザ染色: 乾燥固定

パパニコロウ染色



核小体が見えやすい  
核異型の評価に良い

ギムザ染色



炎症細胞の評価が容易  
核異型の評価が難化

## 塗抹細胞診 (2)

- 悪性細胞の評価上の問題点
  - 硝子体細胞(ヒアロサイト)が悪性細胞にからみつく
  - 壊死組織が採取
  - 眼球外へ細胞が露出されると同時に変性が始まる
  - 評価される細胞数が少ない
  - 眼内悪性リンパ腫(IOL)の場合、反応性リンパ球も伴う
- IOL診断率: 低感度
  - 20% (Sugita S et al, Jpn J Ophthalmol 2009)
  - 44.9% (Kimura K et al, Jpn J Ophthalmol 2012)

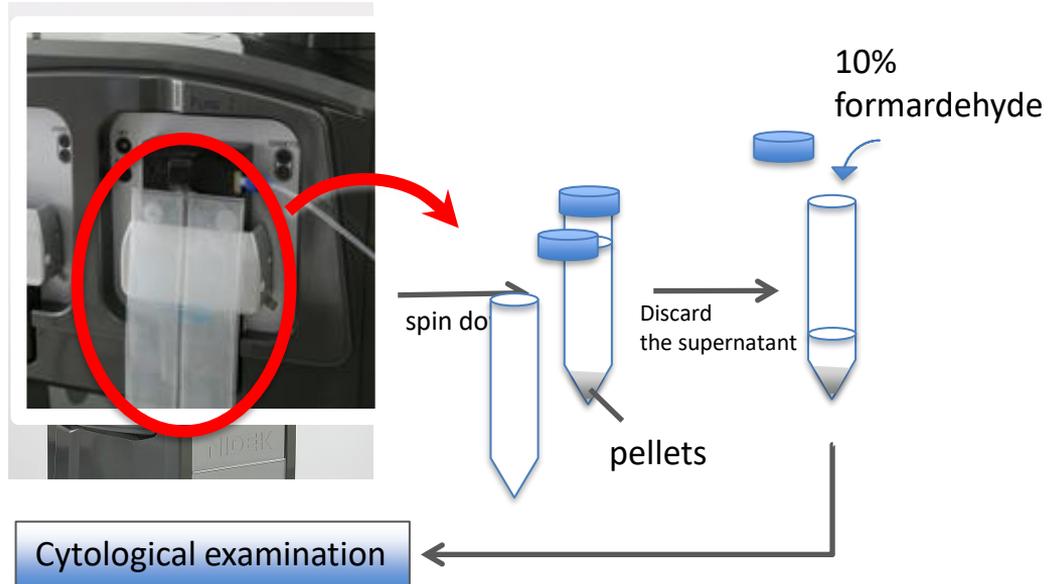
# セルブロック（細胞塊）とは

- 19世紀末にBahrenburgにより初めて報告
- 種々の体腔液、洗浄液などに含まれる細胞を収集して、「塊」として切片を作製する方法
- 集めた塊をフォルマリン固定、パラフィン包埋、薄切、未染色標本作製
- 様々な染色、免疫細胞化学的検討が可能

# セルブロック細胞診の手順

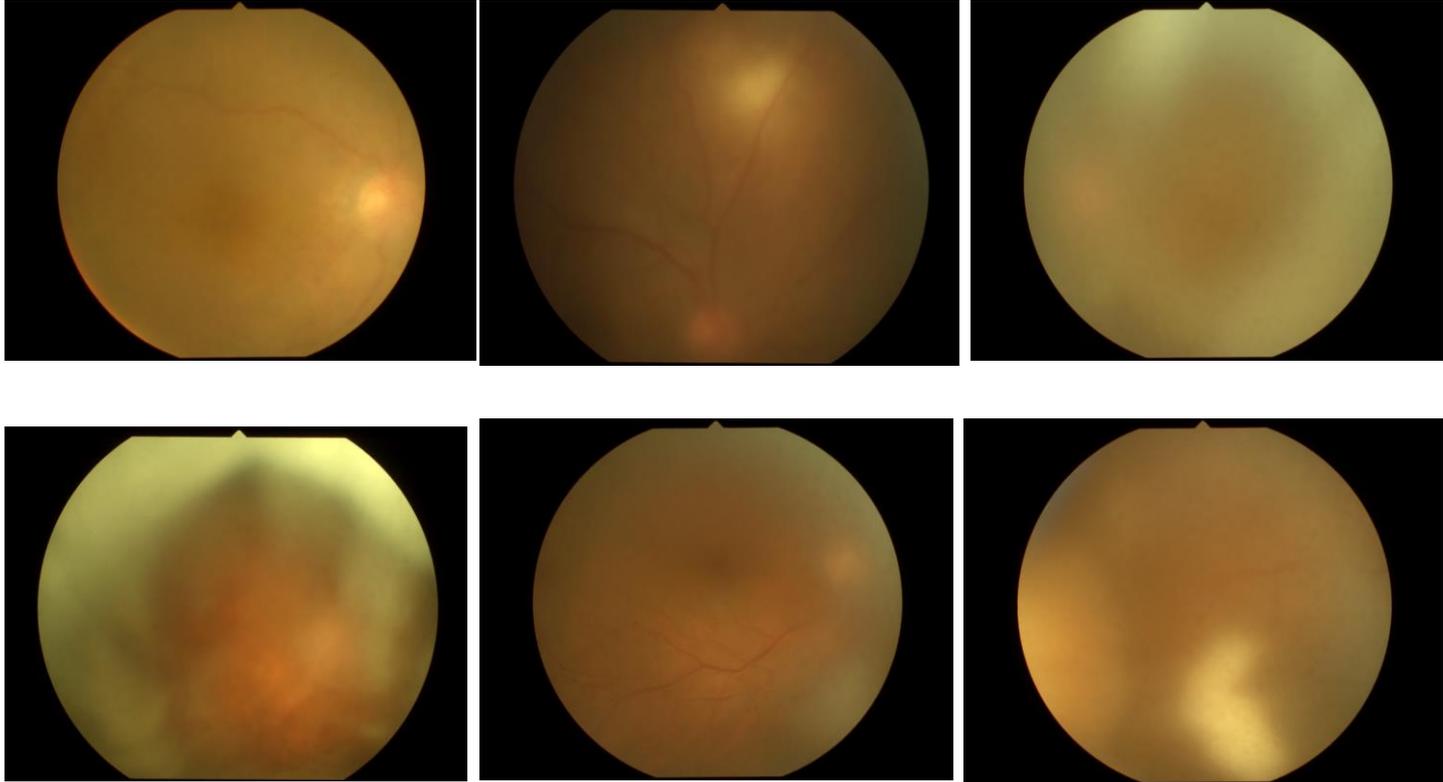
Well-established technique for processing fluid sample in cytology laboratories

- ascitic fluid
- pleural fluid



- HE staining
- Immunocytochemistry

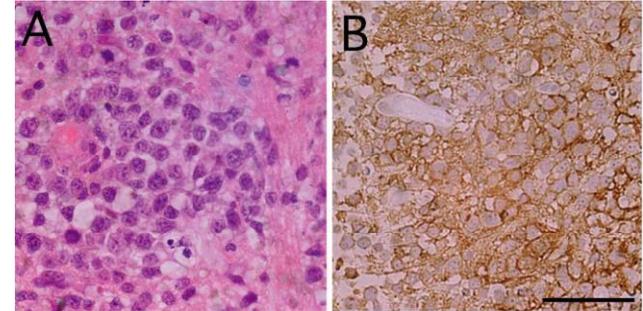
# 硝子体手術を施行した眼内リンパ腫 (IOL)の眼底所見 (当科の症例)



# IOLの病理組織学的特徴

- 大部分はびまん性大型B細胞リンパ腫  
(Diffuse large B-cell lymphoma: DLBCL)
- 悪性リンパ腫のWHO分類の1型
- 大型の異型細胞、B細胞マーカー陽性
- 免疫グロブリン軽鎖K/λの偏倚がある
- 眼原発IOLは2年以内に半数以上中枢神経に腫瘍が形成される

中枢原発悪性リンパ腫



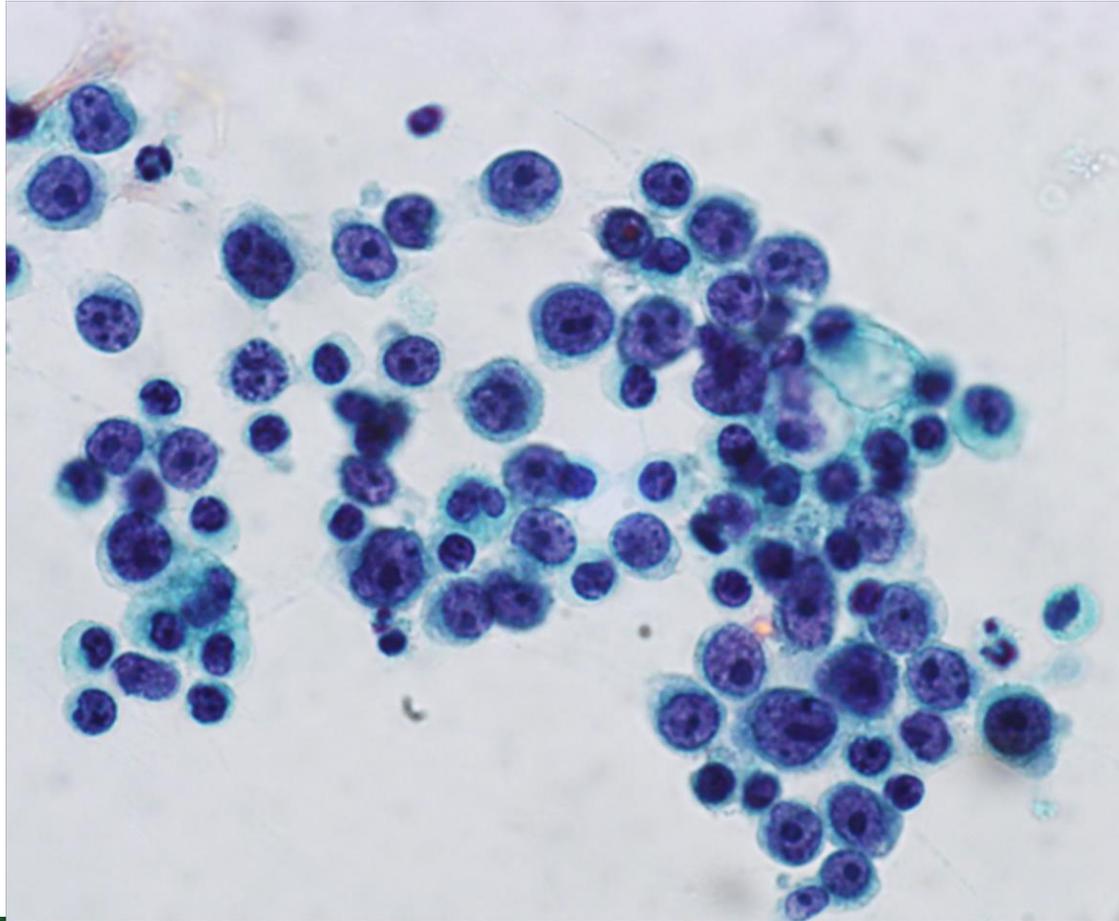
HE染色

CD20  
(B細胞マーカー)

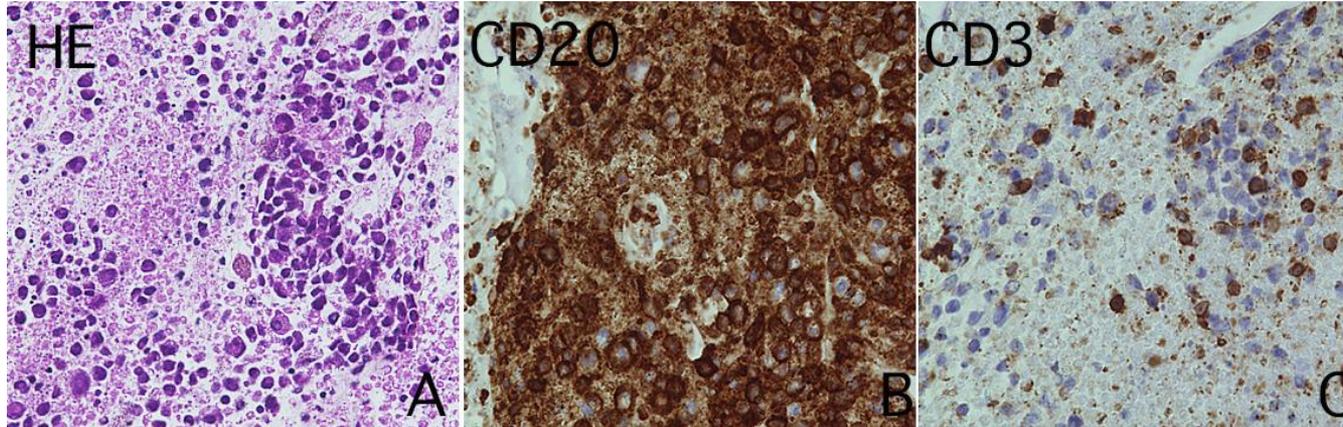
## IOLの特徴、問題点

1. IOLは全ぶどう膜炎症例において、診断される頻度が増している  
(+)
2. 細胞診が最も有力な診断根拠となる (\*)
3. しかし、細胞診の診断率は高くない
4. インターロイキン (IL)-10/-6比 >1、IL-10値 (>100 pg/ml)、免疫グロブリン重鎖 (IgH)遺伝子再構成が補助診断となる

# IOLの硝子体液塗抹細胞診

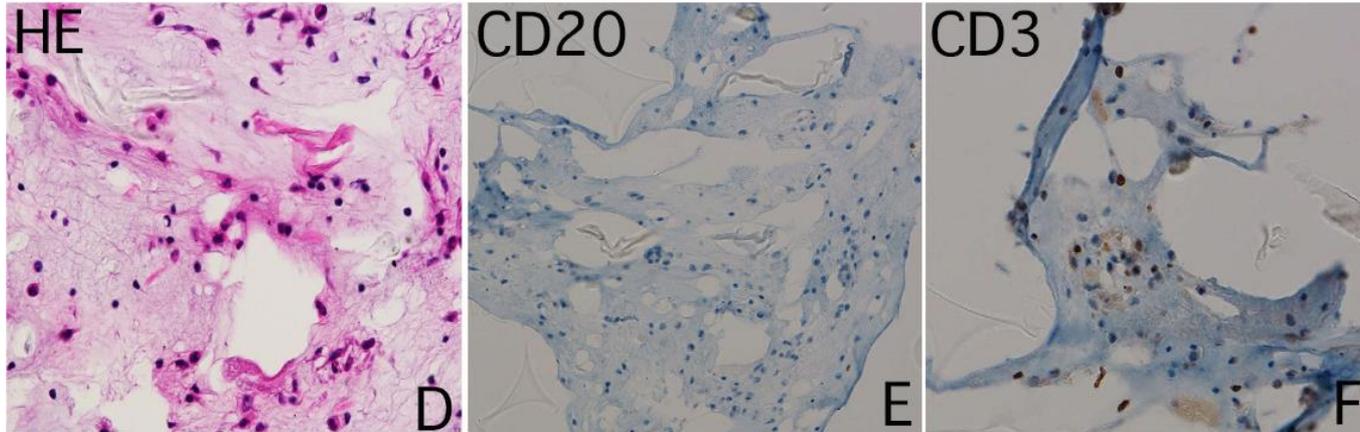


# IOLのセルブロック細胞診



- 壊死性背景
- 高細胞密度
- 核細胞質比の高い大型の異型細胞
- 異型細胞にCD20陽性—びまん性大細胞B細胞リンパ腫
- CD3が小型反応性リンパ球に陽性

# 特発性ぶどう膜炎のセルブロック細胞診



- 清明な背景
- 低細胞密度
- 小型リンパ球とマクロファージ
- 小型リンパ球はCD3陽性T細胞

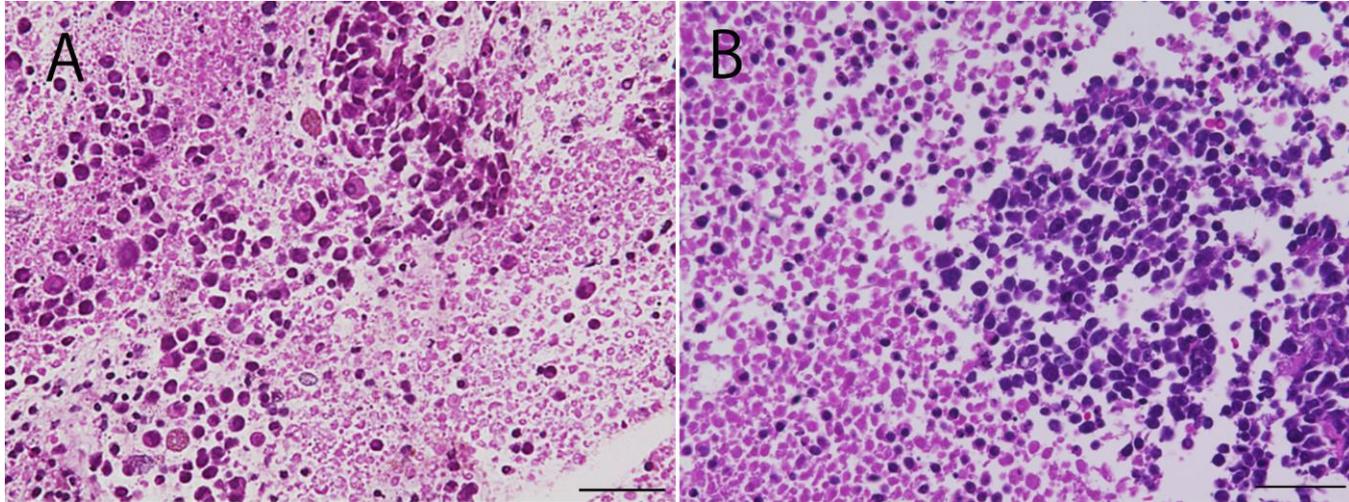
# IOIにおける塗抹細胞診とセルブロック細胞診

Case	Age (years)	Gender	Eye	Type	Smear cytology	Cell block cytology	IgH	IL-10 (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)
1	51	M	R	PVRL	—	+	+	14900	65
2	80	F	L	PVRL	—	+	+	308	108
3	71	M	R	PCNSL→VRL	—	ND	—	28	36.8
			L	PCNSL→VRL	+	+	—	268	11.8
4	79	F	R	DLBCL→VRL	—	+	—	480	105
			L	DLBCL→VRL	+	+	—	417	328
5	69	F	L	PVRL	+	+	—	21100	56.5
6	82	M	R	PVRL	—	5/14 (35.7%)		10	121
			L	PVRL	—			60	9
7	75	M	R	PVRL	+	+	+	90	60
			L	PVRL	—	+	+	60	9.3
8	74	F	L	PCNSL→VRL	+	+	+	1620	45.6
9	72	F	R	PCNSL→VRL	—	+	+	10	636
10	44	M	R	PCNSL→VRL	—	+	+	995	14.2
11	65	M	R	PCNSL→VRL	ND	+	—	25	13.6
12	48	F	L	PVRL	ND	+	+	128	25.2

# IOIにおける塗抹細胞診とセルブロック細胞診

Case	Age (years)	Gender	Eye	Type	Smear cytology	Cell block cytology	IgH	IL-10 (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)
1	51	M	R	PVRL	—	+	+	14900	65
2	80	F	L	PVRL	—	+	+	308	108
3	71	M	R	PCNSL→VRL	—	ND	—	28	36.8
			L	PCNSL→VRL	+	+	—	268	11.8
4	79	F	R	DLBCL→VRL	—	+	—	480	105
			L	DLBCL→VRL	+	+	—	417	328
5	69	F	L	PVRL	+	+	—	21100	56.5
6	82	M	R	PVRL	—	+	14/15 (93.3%)		
			L	PVRL	—	—			
7	75	M	R	PVRL	+	+	+	90	60
			L	PVRL	—	+	+	60	9.3
8	74	F	L	PCNSL→VRL	+	+	+	1620	45.6
9	72	F	R	PCNSL→VRL	—	+	+	10	636
10	44	M	R	PCNSL→VRL	—	+	+	995	14.2
11	65	M	R	PCNSL→VRL	ND	+	—	25	13.6
12	48	F	L	PVRL	ND	+	+	128	25.2

# セルブロック標本と眼球摘出標本の比較

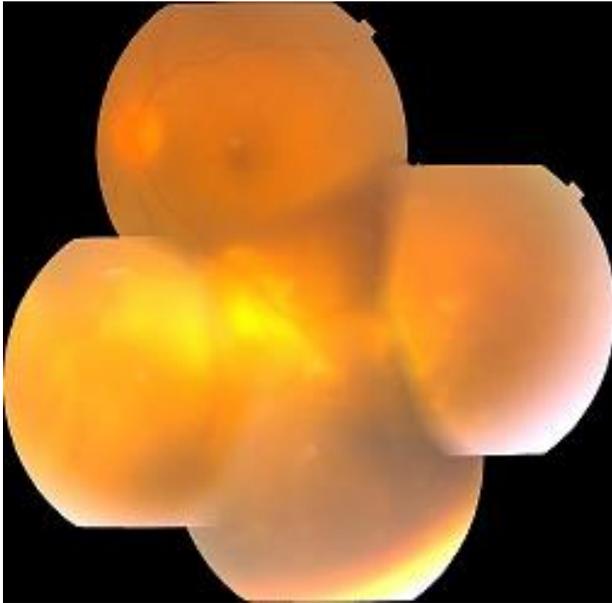


セルブロック細胞診

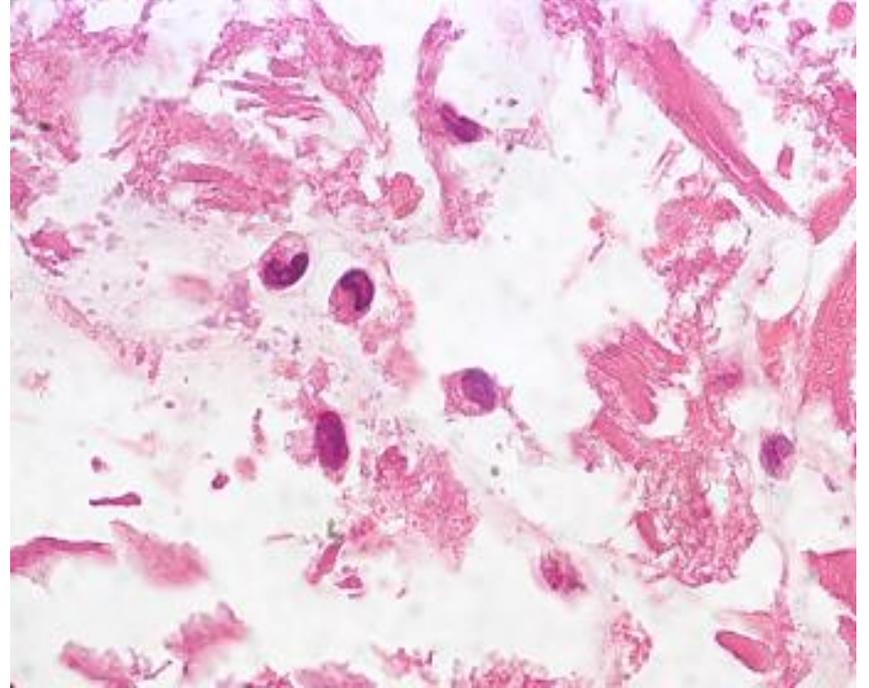
摘出眼球組織

セルブロック標本で見られる壊死性背景、細胞像は眼球摘出標本と類似していた

## 眼トキソカラ症の硝子体液セルブロック細胞診

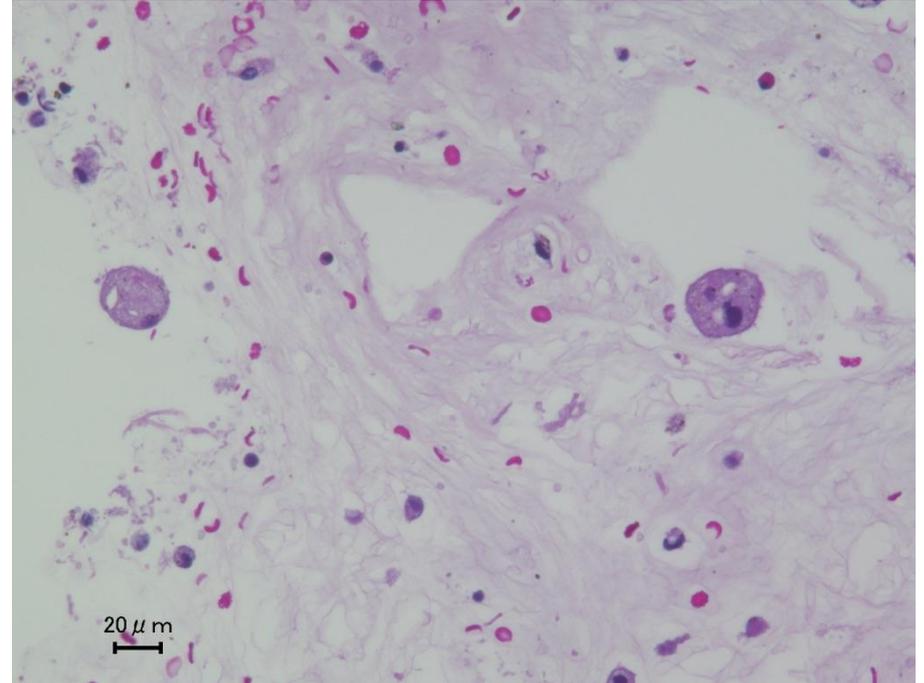
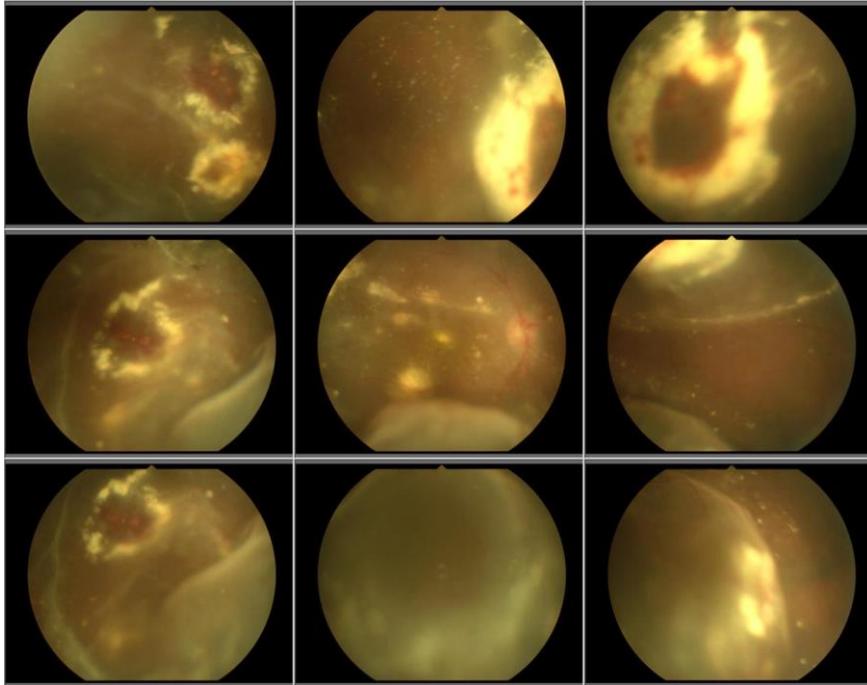


硝子体液トキソカラチェック陽性



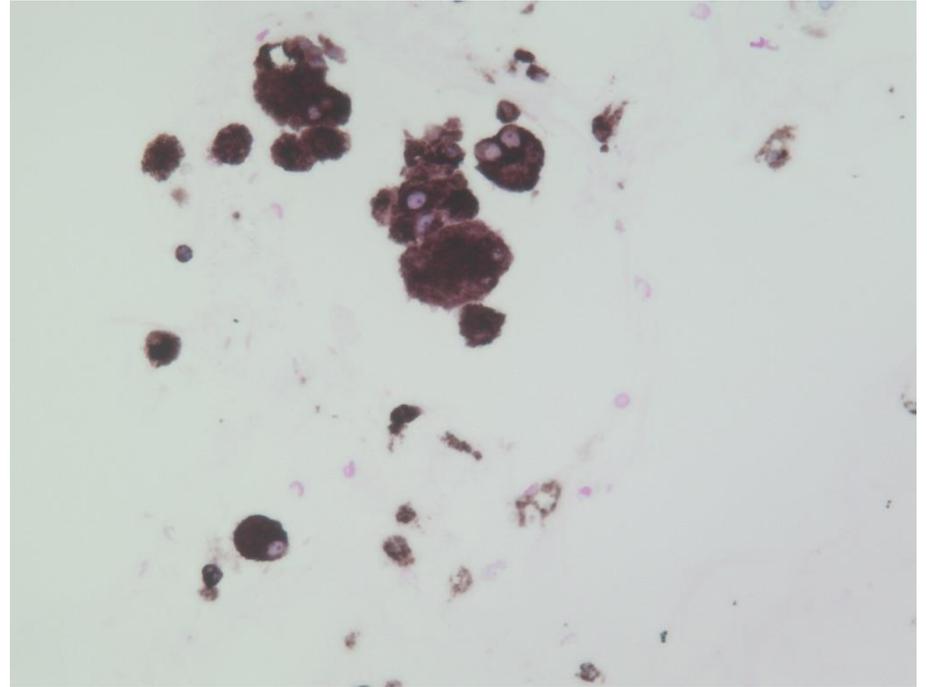
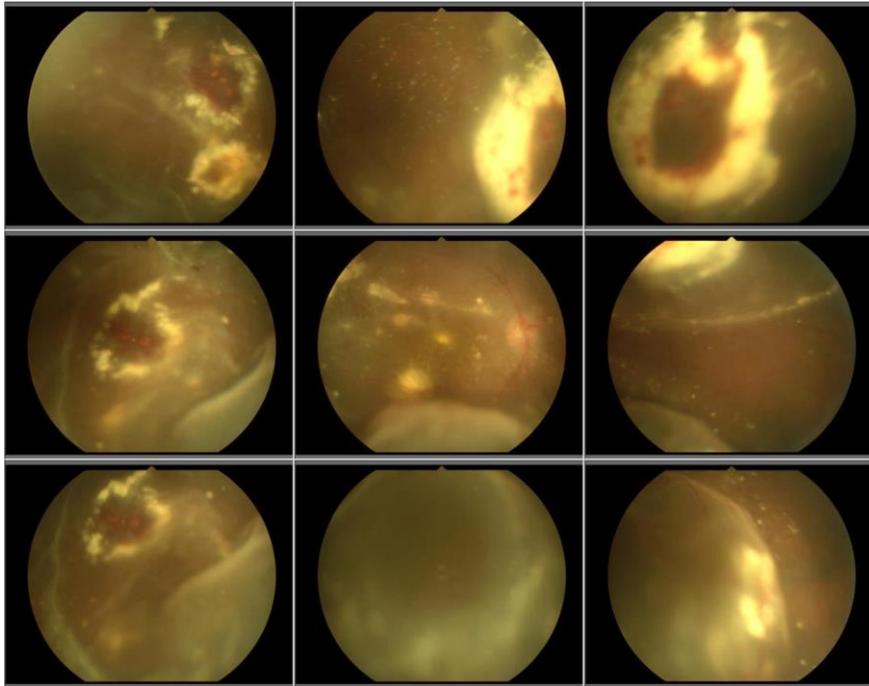
好酸球とリンパ球浸潤がみられる

## 裂孔原性網膜剥離を伴ったCoats病のセルブロック



マクロファージを示唆する脂肪滴を含有する巨大な細胞質有する細胞がみられる

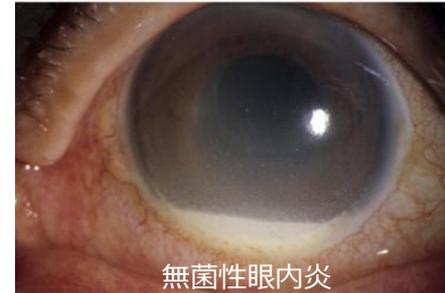
## 裂孔原性網膜剥離を伴ったCoats病のセルブロック



マクロファージマーカーであるCD68陽性

# 眼内炎の特徴・臨床所見

	無菌性眼内炎	コアグラエーゼ陰性眼内炎 <sup>1)</sup>	腸球菌眼内炎 <sup>2)</sup>
発症時期	1～3日	4～7日	2～5日
予後	良好	割と良好	不良
眼痛	なし～軽度	なし～軽度	中等度～高度
結膜初見 (充血、眼脂)	ほとんどなし	軽度	中等度～高度
前房蓄膿	約半数にあり	あり	あり
硝子体混濁	軽度～高度	軽度～中等度	中等度～高度

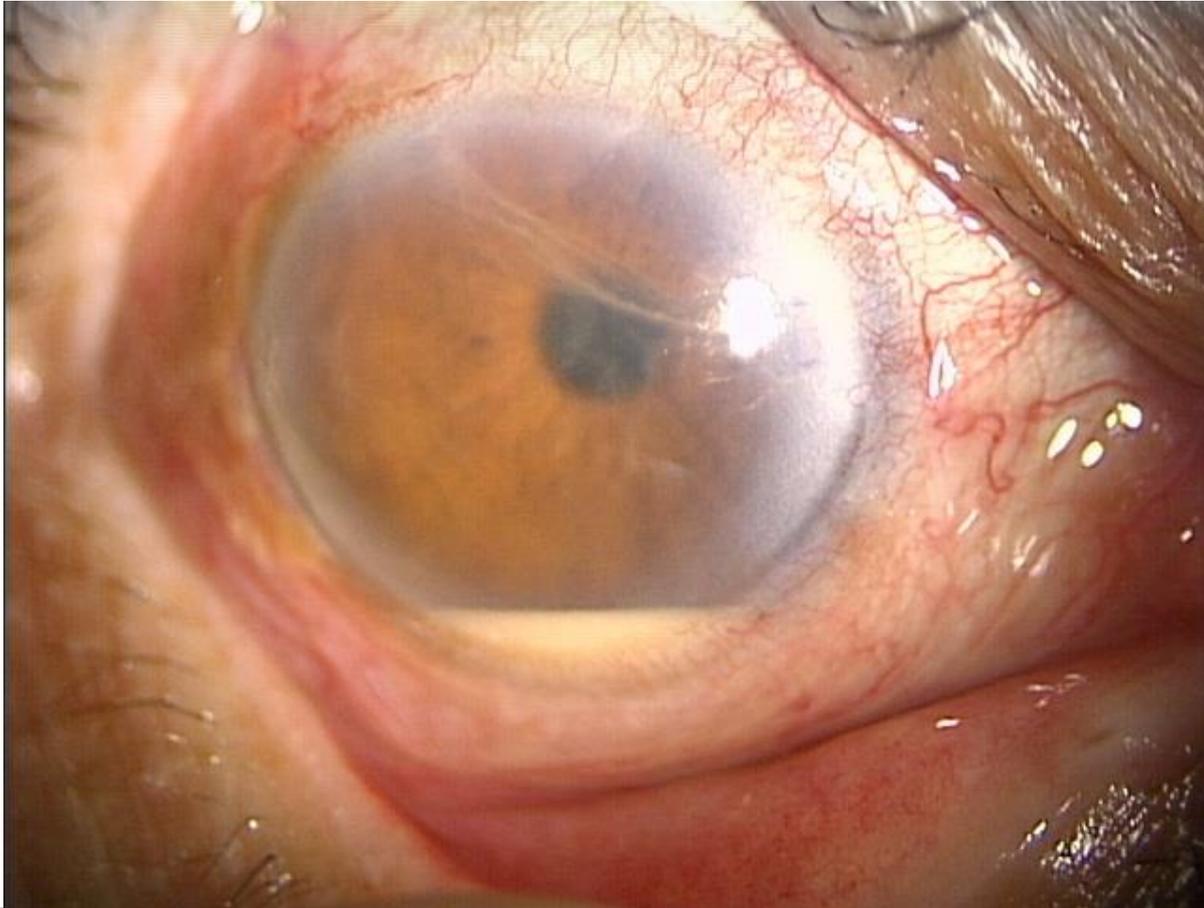


Roth DB, et al *Am J Ophthalmol* 2008

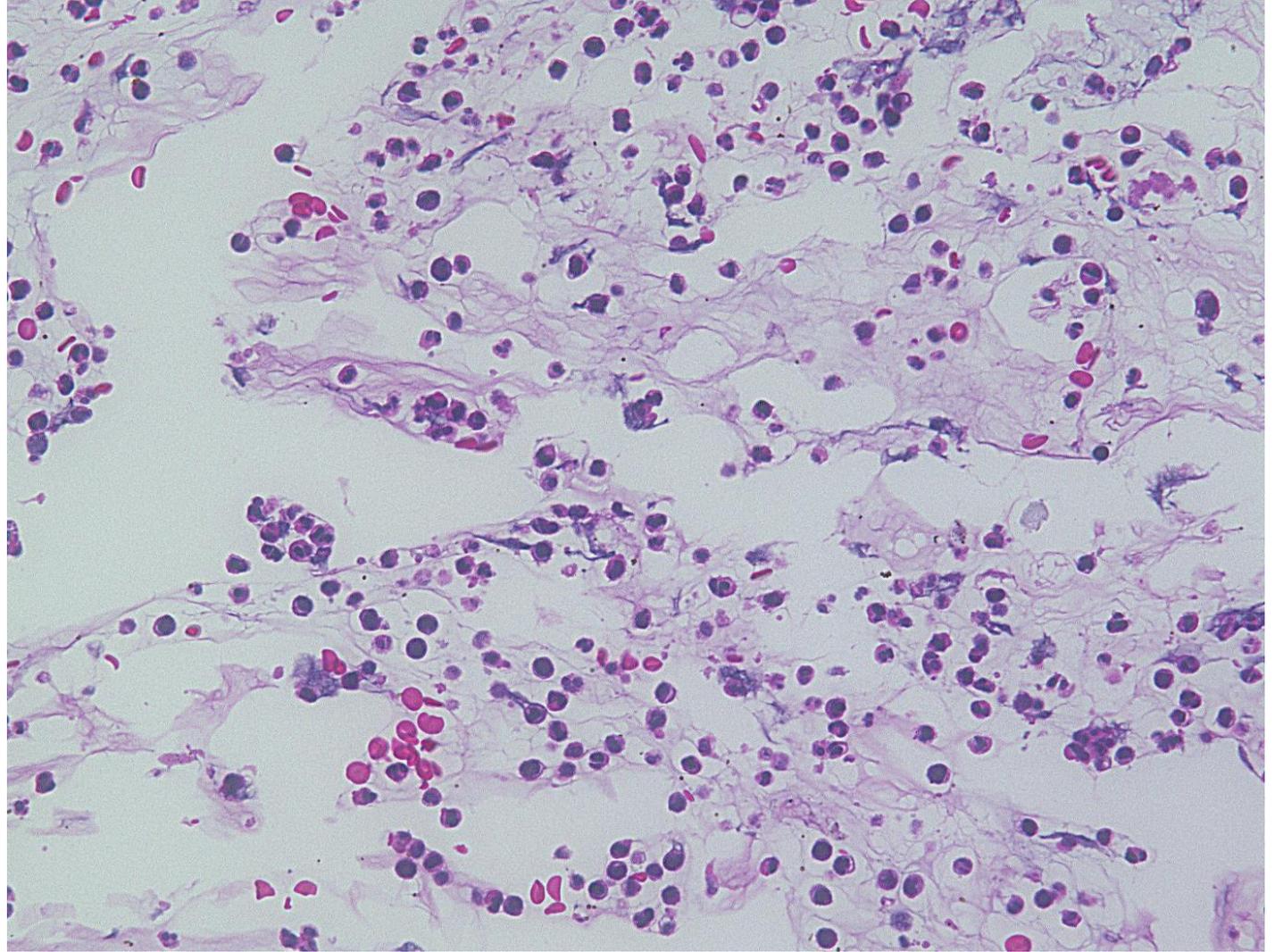
1) 島田 宏之, 他 術後眼内炎パーフェクトマネージメント 2018

2) 鈴木 崇, 他 *Journal of Japanese Ophthalmology* 2013

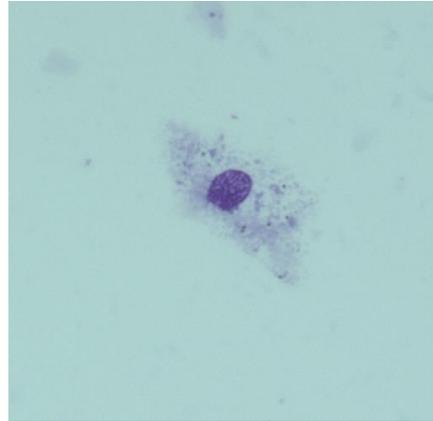
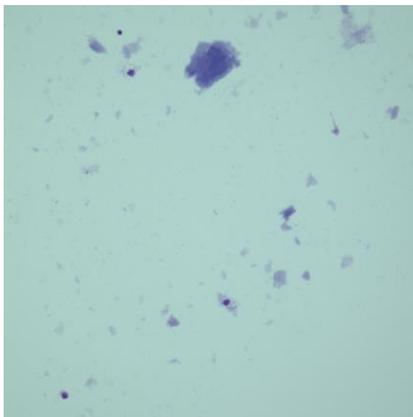
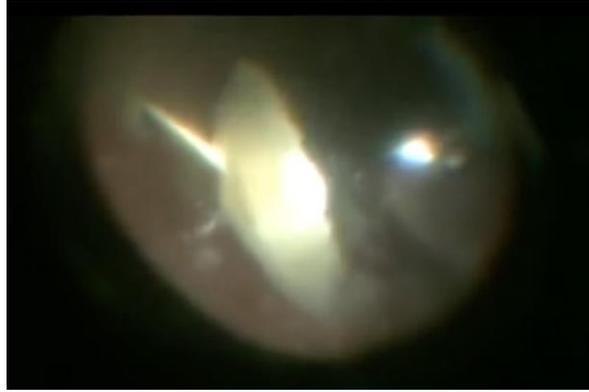
# 白内障術後眼内炎



多数の好中球  
→細菌性眼内炎



# 水晶体起因性眼内炎



- 70代男性
- 白内障術後眼内炎で紹介
- 細胞診では組織球が検出

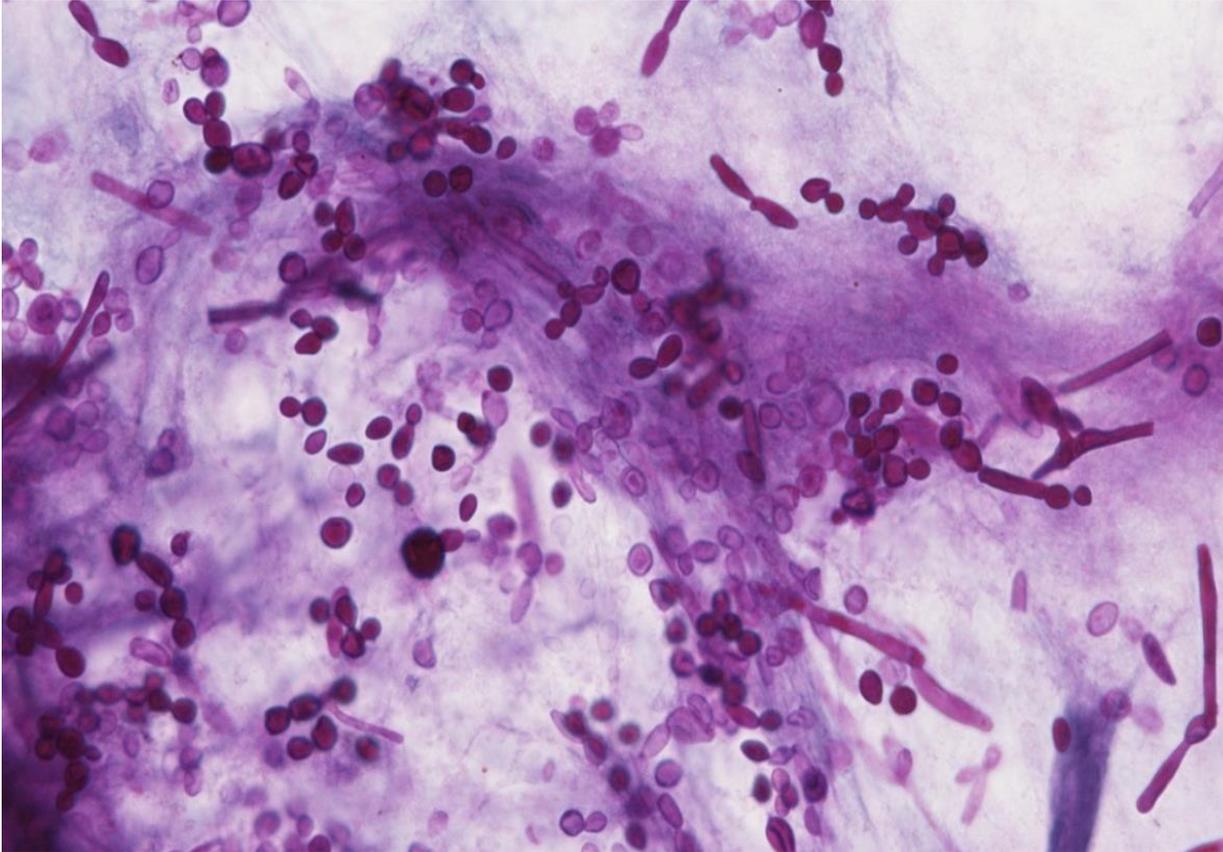
# 細胞診からみた眼内炎の鑑別

	細菌性	TASS	水晶体起因性
細胞診所見	好中球、組織球	リンパ球	組織球、時に貪食像 好中球

TASS, toxic anterior segment syndrome

細胞診所見で、組織球が多く見られる場合には  
水晶体起因性眼内炎の診断の根拠になり得る。

## 真菌性眼内炎のセルブロック標本



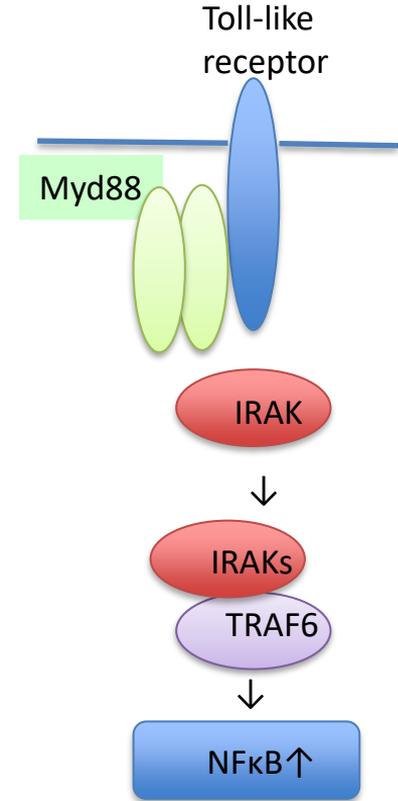
*Candida albicans*



# セルブロック細胞診標本を用いた 臨床病理学的研究

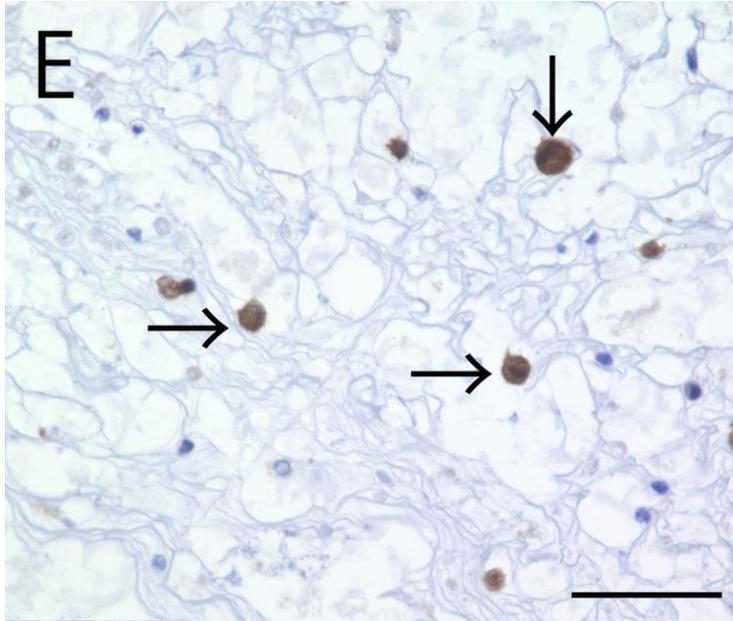
# Myd88

- Myd88 (Myeloid differentiation primary response gene (88)): Toll-like/インターロイキン1受容体の細胞内ドメインに結合するアダプター蛋白
- 二量体を形成することでIRAK4 (interleukin-1 receptor-associated kinase) の自己リン酸化を誘導し, IRAK1, TRAF6を介してNF $\kappa$ B経路を活性化<sup>1)</sup>
- 多くのDLBCLでMyd88 L265Pの遺伝子変異あり<sup>2)</sup>
- 腫瘍におけるMyd88の蛋白発現も亢進している<sup>3)</sup>

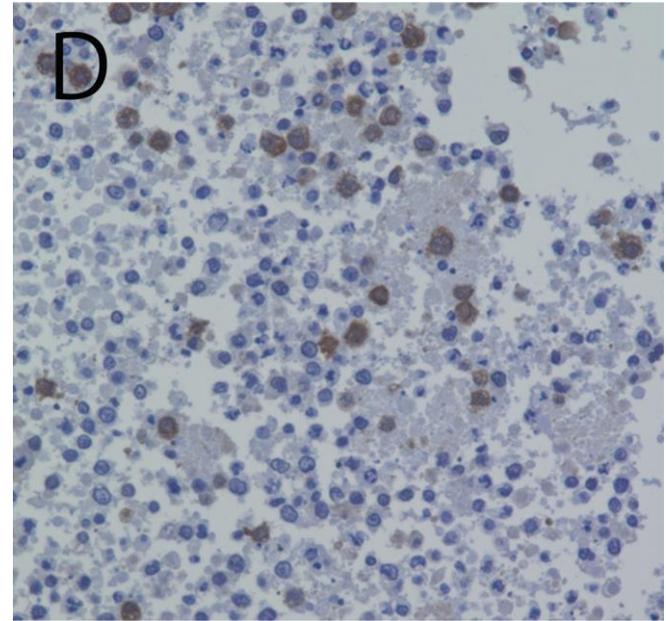


1: Treon SP, et al. N Engl J Med 2012  
2: Taniguchi K, et al. Am J Surg Pathol 2016  
3: Oishi N, et al. Pathol Int 2015

# Myd88タンパクの発現



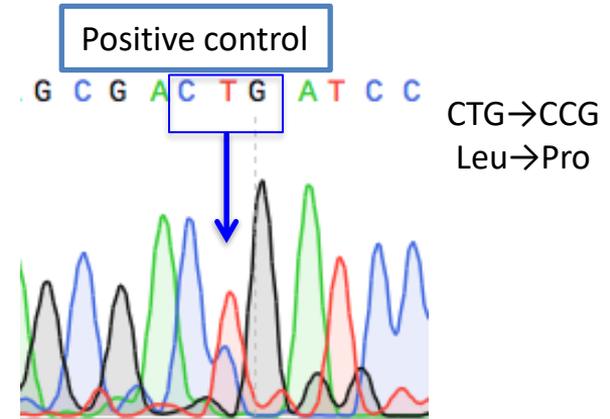
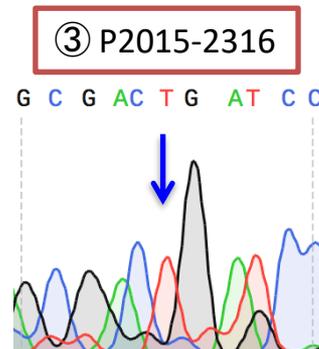
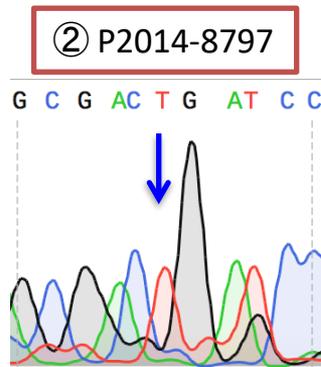
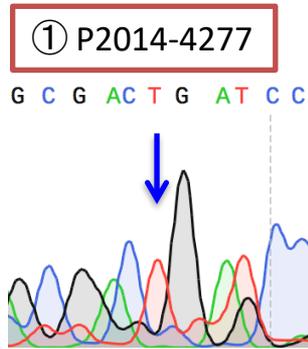
セルブロック



眼球摘出標本

Myd88はIOLのリンパ腫細胞に発現していた

# セルブロック標本を用いたMyd88 exon 5 におけるL265P遺伝子変異の検索



PCR-RFLP法

Myd88のDNA抽出は可能であり、Myd88遺伝子変異は検出されなかった

## まとめ

- セルブロック細胞診は塗抹細胞診よりも、悪性細胞の診断率の向上に貢献する
- セルブロック細胞診で観察される細胞は、組織学的に観察される細胞と形態、タンパク発現が類似している
- セルブロック細胞診は、免疫細胞化学的検討が可能である
- セルブロック細胞診検体よりDNA抽出、遺伝子解析も可能である