原 著

液状検体の新しい細胞標本作製法

——サコマノ氏集細胞法の応用——

東北大学抗酸菌病研究所外科学部門

斎藤 泰紀 天野 謙 アヌサク・ジュンブルクサワン

赤荻 栄一 須田 秀一 佐藤 博俊

大久田和弘 橋本 邦久 仲田 祐

仙台厚生病院外科細胞診室

関口 礼子

液状検体の細胞診 602 件に対してサコマノ氏集細胞法を応用した。採取された検体は、50%エタノール・2% カーボワックス混合液により直ちに固定されるため、細胞変性はごくわずかで、細胞の軽度の収縮はあるが、細胞の微細構造の観察は容易であった。

また、固定された細胞の比重は、1.24 から 1.28 の間で、きわめて高比重となるため、沈降速度が著しく大となり、髄液など細胞が少数の検体でも、軽い遠心操作で十分な沈渣を得ることができた。

さらに、乾燥した未染標本には適宜特殊染色を行うことができ、容器に注入した検体を移し替えずに、合理的な標本処理を行うことが可能な変法を考案し、602 件の診断成績は、満足すべきものであった。

Key words : Body fluids—Cytological technics—Cell concentration

は じ め に

New Approach to Cytological Diagnosis of Body Fluid Specimens —Application of Saccomanno's cell concentration method—

Yasuki SAITO, M.D., Yuzuru AMANO, M.D., Anusak, YIENPRUGSAWAN M.D., Eiichi AKAOGI, M.D., Hideichi SUDA, M.D., Hirotohi SATO, M.D., Kazuhiro OHKUDA, M.D., Kuniyasa HASHIMOTO, M.D. and Tasuku NAKADA, M.D.

Dept. of Surgery, The Research Institute for Chest Diseases and Cancer, Tohoku University

Reiko SEKIGUCHI, C.T., I.A.C.

Cytological Section, Dept. of Surgery, Sendai Kosei Hosp.

Reprint request ☎980 仙台市星陵町 4-1 東北大学抗酸菌病研究所外科学部門

昭和 55 年 7 月 4 日受付

現在、一般に施行されている胸水、腹水、尿、髄液、胆汁等の液状検体における細胞診は、大きな欠点を有している。すなわち、遠心操作や、フィルター使用による資料の収集過程を経てスライドグラスに塗抹し、しかる後に固定するため、その間に生ずる細胞の変性が的確な細胞所見把握の妨げとなる。さらに、検体中の細胞数が少ない場合は十分な沈渣が得られず、フィルター、オートスメア等の使用が強いられるとともに、胸腹水における粘液染色^{4,5,10,23)}をはじめとする種々の特殊染色の併用のための未染標本の保存、再検が必要となり、標本作成過程が煩雑になりがちである。

著者らはこの欠点を克服するために、すでに喀痰細胞診において確立されているサコマノ氏集細胞法¹⁰⁾の原理

表 1 サコマノ氏集細胞法による液状検体細胞診件数

胸	水	439
腹	水	125
心	のう液	12
髄	液	5
	尿	19
胆	汁	2
計		602

(1977.4~1979.3)

図 1 液状検体の細胞診に用いた容器

喀痰細胞診に用いるものをそのまま利用した。あらかじめ 20ml のサコマノ氏液を入れておき、検体 5~10 ml を採取と同時に注入する。内蓋および外蓋を装着し、標本の移送を可能とした。

表 2 サコマノ氏集細胞法による液状検体細胞診手順

- ① サコマノ氏液 (50% エタノール, 2% カーボワックス混合液) 20 ml に検体 5~10 ml を注入
- ② 十分に振盪し、放置
- ③ 細胞診用ホモジナイザーで, 18,000 r.p.m. 5 秒間攪拌
- ④ 1,500 r.p.m. 3 分間遠心, 上清棄却
- ⑤ 沈渣にサコマノ氏液を数滴加え, サーマミキサーで振盪混合
- ⑥ スライドグラスに滴下し, すり合せて塗抹
- ⑦ 乾燥
- ⑧ 染色

を液状検体の細胞診に応用し、検体採取と同時に細胞を固定するとともに、検体の採取固定から、移送、標本作製保存まで一貫した合理的な処理法を考案し、良好な結果を得たので報告する。

対象および方法

東北大学抗酸菌病研究所附属病院において、1977 年 4 月より、1979 年 3 月までの 2 年間に施行した液状検体の細胞診は、602 件であった。

その内訳は、胸水 439 件、腹水 125 件、心のう液 12 件、髄液 5 件、尿 19 件および胆汁 2 件であった (表 1)。

これらの検体は、すべて以下の手順に従って標本作製した。まず、50% エタノール・2% カーボワックス 1540 混合液であるサコマノ氏液 20 ml の入った容器に (図 1)、検体を 5~10 ml 注入し、十分に振盪した。次に細胞診用ホモジナイザーで、18,000 r.p.m. で 5 秒間攪拌した後、1,500 r.p.m. で 3 分間遠心し、上清は棄却した。沈渣にサコマノ氏液を適量加えて希釈し、振盪した後、スライドグラスに滴下し、2 枚ですり合せて塗抹した後乾燥し、染色した (表 2)。

染色は、Papanicolaou 染色 (以下 pap. 染色と略す) を 2 枚行い、未染乾燥標本 2 枚を同時に保存して適宜特殊染色に供した。

検体を注入する容器は、喀痰細胞診用のものをそのまま利用し (図 1)、攪拌、遠心、保存まで、移し替えることなく一貫して用いた。

成 績

1,500 r.p.m. 3 分間の遠心操作によって得られた上清に遺残する細胞は、きわめてわずかであった。胸腹水の場合は十分な沈渣が得られ、上清棄却後にサコマノ氏液を適量加えて希釈することにより、検鏡に適した塗抹状態が得られ、細胞は均等に分散して観察された。

また、髄液、尿等の、細胞が少数である検体の場合でも、十分に沈渣を形成し、良好な標本作製することが可能であった (図 2)。

攪拌操作は、必ずしも全例に行う必要はなかったが、この操作を加えることにより、血液凝固あるいはフィブリン網による細胞の凝集があれば、それを解くことが可

図 2 髄液中の悪性リンパ腫細胞 (Pap. 染色 ×1,000) 核・細胞質比のきわめて高い類円形の細胞が散在している。細胞が少数であっても沈渣を得ることが容易である。

図3 胸水中の肺腺癌細胞集団 (Pap. 染色 $\times 1,000$)
重積性を有して立体的に配列し、細胞質は豊富で大小の空胞を有し、核は軽度に収縮するが、微細構造は明瞭である。

図4 胸水中の肺腺癌細胞集団 (Pap. 染色 $\times 1,000$)
細胞の結合は良好に保たれ、核は類円形で核縁は薄く円滑、クロマチンは細顆粒状で均一に分布し、肥大した円形の核小体がみられ、腺癌の判定は容易である。

能であった。また、攪拌操作を行わない標本と比較して、個々の細胞の破壊および細胞集団の分断はみられず、腺癌細胞はもとより (図3~5)、肺小細胞癌例においても微妙結合が保持されていた (図6)。

したがって、細胞集団の保存はきわめて良好で、特徴的な集団の形態から原発巣を推定し得る症例も散見された (図5)。個々の細胞所見においては、従来の作製法による標本と比較し、細胞質と核の軽度の収縮がみられた (図3~5)。しかし、未固定で放置することにより惹起される、いわゆる退行性変性の結果みられる、細胞の膨化や核の融解像はみられず、細胞の微細構造の十分な観察が可能であった。

また、背景にライトグリーンに淡染する微細顆粒状物質が従来の作製法による標本と比較しやや多くみられたが、検鏡上著しい障害とはならなかった。これらは血漿を本法で処理し、検鏡したときに濃厚にみられ、フィブリン、アルブミン、グロブリン等の遊離蛋白質であると

図5 胸水中の乳癌細胞集団 (Pap. 染色 $\times 1,000$)
比較的小型で異型性の乏しい細胞であるが、きわめて特徴的な球状の集団を形成している。

図6 胸水中の肺小細胞癌細胞 (Pap. 染色 $\times 1,000$)
対細胞あるいは onion skin appearance がみられ、微妙な結合性が弱われる (図2と比較)。

考えられた。

ライトグリーンによる細胞質の染色状態が不良で、オレンジGにのみ染色される症例が散見されたが、これらは容器に10 ml以上の検体を注入したためにサコマノ氏液が希釈され、乾燥時のカーボワックスによる被覆が不良であったためであることが知られた。

乾燥未染標本に対しては、適宜 PAS 染色、alcian-blue 染色、等の特殊染色を行ったが、これらの染色状態はきわめて良好で、粘液産生能を有する腺癌細胞の診断はもとより (図7)、反応性中皮細胞の識別にも非常に有用であった (図8)。

本法による診断成績を検体別にみると (表3)、胸水439件中 class V が156件、class IVが15件で、計171件、31%が陽性であった。これらのうち4件 (2例) は、悪性疾患が証明されず、誤陽性と考えられた。

class IIIの疑陽性は12件で、悪性疾患が証明されず、異型中皮細胞と考えられるものが6件、悪性疾患が証明されたものが2件 (2例) で、他の4件は不明であった。

一方、陰性とした256件中、後の胸水細胞診において

図 7 胸水中の肺腺癌細胞 (A: PAS 染色 $\times 1,000$, B: alcian-blue 染色 $\times 1,000$)
 A: 不規則に濃染する PAS 陽性顆粒がみられる。
 B: 細胞質は alcian-blue により不規則な斑状に染色されている。

図 8 胸水中の良性中皮細胞 (A: Pap. 染色 $\times 1,000$, B: PAS 染色)
 A: ライトグリーンに濃染する細胞質と類円形の核を有する中皮細胞。
 B: 細胞辺縁の PAS 陽性顆粒が特徴的である。

陽性であることが証明され、誤陰性であったと考えられるものが3件(3例)、過去の胸水細胞診で陽性であったにもかかわらず、後に陰性となったものが6件(4例)あり、後者は化学療法による影響が大であると考えられた。

誤陽性例を除外した、胸水細胞診陽性件数の内訳をみると、原発性肺癌が143件(91例)、転移性肺癌が22件(10例)であった(表4)。

原発性肺癌の推定組織型をみると、腺癌が80件(50例)と過半数を占め、以下大細胞癌21件(11例)、小細胞

表3 液状検体細胞診成績(件数)

Class 判定	I	II	III	IV	V
胸 水	155	101	12	15	156
腹 水	38	32	0	1	54
心のう液	0	3	0	1	8
髄 液	3	1	0	0	1
尿	8	6	0	0	5
胆 汁	0	0	0	0	2
計	204	143	12	17	226

表4 胸水細胞診陽性件数内訳

原発性肺癌	143	(91)
腺 癌	80	(50)
大細胞癌	21	(11)
小細胞癌	13	(12)
扁平上皮癌	10	(7)
推定不能	19	(11)
転移性肺癌	22	(10)
不 明	2	(2)

(): 症例数

表5 胸水細胞診陽性転移性肺癌件数内訳

乳 癌	6	(5)
甲状腺癌	6	(1)
悪性黒色腫	4	(2)
胃 癌	2	(2)
卵巣癌	1	
悪性リンパ腫	1	
膵 癌	1	
胸 腺 腫	1	

(): 症例数

図9 胸水中の悪性黒色腫細胞 (Pap. 染色 ×1,000)
細胞質内にメラニン顆粒がみられる。

胞癌13件(12例)とつづき、扁平上皮癌は10件(7例)と比較的まれであった。推定不能であった19件(11例)中10件(7例)は、出現した腫瘍細胞数が少ないか、容

表6 腹水細胞診陽性件数内訳

胃 癌	26
卵巣癌	6
膵 癌	3
結腸癌	2
肝癌	2
直腸癌	1
腎 癌	1
胆のう癌	1
食道癌	1
悪性リンパ腫	1
カルチノイド	1
肺 癌	1
乳 癌	1
悪性黒色腫	1
不 明	2

図10 PTCDによる胆汁中の胆管癌細胞
(Pap. 染色 ×1,000)

胆汁中の細胞は一般に変性が強いとされているが、空胞を有する細胞質、類円形核、肥大した核小体等、変性のない良好な所見が得られた。

図11 尿中の腎癌細胞集団 (Pap. 染色 ×1,000)

豊富で空胞を有する明るい細胞質と、肥大した円形の核小体を有する類円形の核がみられる。

器への検体の注入量が多く、乾燥時のカーボワックスによる被覆が不十分となり、良好な所見が得られなかったものであり、ほかは異型細胞として十分な所見が得られても細胞の同定が困難で、いずれとも決定し得なかったものであった。

胸水細胞診陽性の転移性肺癌では、乳癌が最も多かった(表5)。悪性黒色腫、悪性リンパ腫、および乳癌の一部は、細胞所見から原発巣を推定することが可能であった(図5, 9)。

心の液細胞診陽性の9件はすべて肺癌例で、採取量が僅かな場合でも、良好な標本が得られた。

腹水細胞診陽性件数の内訳は、表6のごとくで、胃癌、卵巣癌、膵癌、結腸癌等、種々の悪性疾患において陽性であった。

髄液でも悪性リンパ腫例をはじめとして、良好な標本が得られ(図2)、オートスメア使用の必要性を感じなかった。

胆汁の細胞診においては、PTCDより得られたものが2例あり、採取後直ちにサコマノ氏液中に注入し固定するのみで、冷却も行わなかったが、変性の少ないきわめて良好な標本が得られた(図10)。

尿においても良好な所見を得ることができたが(図11)、本法に用いた容器への注入量が10 ml以下と制限されているため、標本上に出現する細胞数は、フィルターに多量の尿を通過させることにより得られる標本に比べて少ない場合もあった。

考 察

液状検体の細胞診の標本処理は、諸家により種々の工夫が行われているが^{2,3,11,20}、一般には、採取された検体を遠心し、沈渣を直接スライドガラス上に塗抹した後に湿固定して染色するという方法が採られている。この原則は、オートスメア、ミリポアフィルター、ヌクリポアフィルター等を用いた場合¹⁵も変わらない。

このため、採取より固定までの間に細胞変性をきたすという重大な欠点を有している。液状検体以外の細胞診においても、ほとんどが塗抹後に固定を行い、この原則は動し難いものであるかのようであった。

しかし、1963年に Saccomanno ら¹⁶は、50% エタノール・2% カーボワックス 1540 混合液により、喀出された喀痰を浮遊させたまま直ちに湿固定するという集細胞法を報告し、その後その診断成績がきわめて優秀であることが知られ^{17,19}、「塗抹後固定」の原則は必ずしも普遍的ではなくなった。

その後、“Delayed fixation”, すなわち固定の遅れによる、細胞変性を防ぐために、50% エタノールにより、採取した検体を直ちに固定する方法は、胸腹水については Koss⁹により、尿については Melamed¹²により提唱されていたが、未だ確立された方法としては普及していない。むしろ、以下に述べるサコマノ氏集細胞法の原理を十分に応用することが、液状検体の細胞診のより徹底した改良になると考えられ、著者らは1977年4月以降、液状検体の細胞診をすべてサコマノ氏集細胞法(以下、本法とす)によって施行している。

本法の特徴は、次のごとく要約される。すなわち、① 検体採取と同時にエタノールによる固定が開始され、② 高速攪拌操作により、細胞に付着した粘液、フィブリン、凝固した血液等を分断し、細胞の均等な分散が得られ、③ 塗抹乾燥後も細胞はカーボワックスの被膜により保護され、長期保存にも耐える、の3点である。著者らは、固定、攪拌、遠心、残余標本の保存、さらには郵送までが一貫して同一の容器で行うことのできる変法(抗研式変法)を喀痰細胞診に用いており¹⁹、これをそのまま液状検体の細胞診に利用したため、上記の3点に加え、操作が能率的で移し替えによる喪失が皆無であるという第4の特徴も併せもつことになった。

結局、本法による液状検体の細胞診においては、エタノールによる固定が、細胞が浮遊状態のままで行われるために、従来の方法にみられた未固定のまま放置することによって生ずる細胞の退行性変性をまったく生ずることなく、多数の検体でも能率的に処理することができるようになった。

固定はエタノールの脱水作用によるものであり、細胞質と核の軽度の収縮はこの過程で生じるものである。浮遊状態における収縮は三次元的であり、一方、塗抹した後に固定した場合は塗抹面方向の収縮は軽度となり、検

図12 比重別に分離された胸水中の細胞
シヨ糖水溶液を比重別に重層し、15°C、15,000 r.p.m., 30分間遠心。壁面に付着した斜めの層は、遠心中の境界面の位置を示す。

鏡時には両者に若干の差が現れると考えられる。したがって細胞の収縮は固定に伴う不可避的な現象である。

また、本研究に先立って施行した基礎的実験の結果、細胞の収縮に伴い、比重は著しく増加することが知られた¹⁸⁾。すなわち、本法によって得た沈渣を、1.24, 1.26, 1.28の3種の比重別に重層したショ糖水溶液中において、15°, 15,000 r.p.m., の条件下で30分間遠心したところ、比重1.24と1.26の間、および比重1.26と1.28の間に沈降層が形成された(図12)。両者の沈降物中の細胞成分に差はなく、癌細胞から顆粒状の遊離蛋白質を含めてすべての細胞が含まれていた。したがって、本法によって固定された細胞の比重は、1.24から1.28の間にあることが知られた。

固定前の癌細胞の比重は、清水²¹⁾, McGrew¹¹⁾ により1.04~1.05であることが知られており、さらに、サコマノ氏液の比重が0.84であることもあいまって、未処理のまま遠心する場合と比較し、細胞と溶媒の比重差は約10倍の高値となる。Stokesの法則によれば、細胞の大きさの変化を相殺しても、この著しい比重差により本法における細胞の沈降速度はきわめて大となり、1,500 r.p.m. 3分間の遠心条件で、十分な沈渣が得られる原理が理解できる。

カーボワックスの使用により、塗抹乾燥後も湿固定が維持されるため、未染塗抹標本の保存状態はきわめて良好で、数ヵ月後に染色しても変化はなく、容器内に保存した残余標本の再検も容易であった。

当施設の2年間における本法の診断成績は、胸水では、91例に対して誤陽性2例、および誤陰性の確認し得るものは3例にとどまり、諸家の成績^{1,6,7,9,14)}と比較してもきわめて満足すべきものであった。

心のう液での陽性例はすべて肺癌であり、その所見は胸水と同様であったが、採取量がわずかでも良好な標本を得た。

腹水では様々な悪性疾患において細胞診陽性となり、満足すべき成績であった。

髄液は極めて採取量がわずかで、一般にはオートスメアが用いられているが、本法では遠心操作により容易に沈渣が認められ、きわめて良好な標本が得られた。もちろんオートスメアは容易に併用し得たが、その必要は認めなかった。

尿においても変性の少ない良好な標本が得られたが、著者らの用いた容器への注入限度が10 ml であるため、出現細胞数がフィルターを用いるほど十分ではなく、改善の余地を残した。そこで、沈渣の形成が不十分であった症例の尿を20~30 ml 採用し、2倍量のサコマノ氏液

中に注入し、5 μ のメクリポアフィルターにより濾過し、乾燥後染色したところ、細胞数の多いきわめて良好な標本が得られた。また、血性胸水に対しても、10 μ のメクリポアフィルターを併用し、赤血球に対する腫瘍細胞の比率の高い標本を得ることができた。

胆汁の細胞診は細胞の変性が著しいことが知られているが¹³⁾、本法においては冷却することなしに良好な標本を得ることができた。梅津ら²¹⁾は、胆汁細胞診のための基礎的研究においてエタノールによる早期固定の利点を強調しており、著者らによる本法は、胆汁および胆汁に対しても合理的なものであると考えられた。

結 論

サコマノ氏集細胞法(抗研式変法)により602件の液状検体の細胞診を行い、以下の結論を得た。

1. 本法は、即時固定により、細胞の退行性変性を最小限とすることができ、胆・胆汁のごとく変性しやすい検体、あるいは遠隔地からの時間を経た検体でも、良好な標本作製が可能である。
2. 固定された細胞は高化重となり、さらに、一貫した同一容器の使用により、微量の検体でも特別な注意を払う必要はなく、操作が容易なわりには高い集細胞効果を期待できる。
3. 本法による液状検体602件の診断成績は、従来行われている種々の方法に比して、特に卓越しているという印象は得られなかったが、高水準のものであり、きわめて満足すべきものであった。
4. 検体処理は、細胞変性をおそれることなく、喀痰と同じ系列で行うことができ、さらに一貫して同一容器を用いるため、検査室の大幅な省力化を得た。
5. 反面、喀痰処理にサコマノ氏集細胞法を採用していない施設にとっては、煩雑な面もあり、乾燥固定が必要な特殊染色には不向きな点とあいまって、本法の普及には、未だ論議を経る必要があると考えられる。

本稿の執筆にあたり、良き助言をいただいた本学会の諸先生に深謝いたします。

Summary

Sacomanno's cell concentration method was applied to 602 cytological specimens of body fluid. In order to keep cell degeneration to minimum, cells were immediately fixed in Saccomanno's solution (50% etha-

nol+2% carbowax). As the specific gravity of the fixed cells ranged from 1.24 to 1.28, slight centrifuge yielded sufficient sediments. Air-dried specimens on slide glass could be preserved for a long period and stained at any time with various types of stain. This logical procedure, which needs no transfer of specimens from one container to another, gave a high diagnostic value in all 602 fluid specimens.

文 献

- 1) Decker, D.A., et al.: The significance of a cytologically negative pleural effusion in bronchogenic carcinoma, *Chest*, 74: 640~642, 1978.
- 2) Dekker, A., et al.: Cytology of serous effusions; A comparative study of two slightly different preparative methods, *Acta Cytol.*, 20: 394~399, 1976.
- 3) Elequin, F.T., et al.: A quick method for concentrating and processing cancer cells from serous fluids and fine-needle nodule aspirates, *Acta Cytol.*, 21: 596~599, 1977.
- 4) Fisher, E.R., et al.: The periodic acid Schiff reactions as an aid in identification of mesothelioma, *Cancer*, 13: 837~841, 1960.
- 5) Foot, N.C., et al.: The identification of mesothelial cells in sediments of serous effusions, *Cancer*, 12: 429~437, 1959.
- 6) Foot, N.C.: The identification of neoplastic cells in serous effusions, critical analysis of smears from 2029 persons, *Amer. J. Path.*, 32: 961~977, 1956.
- 7) Järvi, O.H., et al.: The accuracy and significance of cytologic cancer diagnosis of pleural effusions (A follow-up study of 338 patients), *Acta Cytol.*, 16: 152~158, 1972.
- 8) Koss, R.G.: Clinical procedures in obtaining cytologic specimens of body fluid, In *Diagnostic cytology and its histopathologic bases*, 2nd ed., 537, J.B. Lippincott Co., Philadelphia, 1968.
- 9) Cardozo, P.L.: A critical evaluation of 3000 cytological analyses of pleural fluid, ascitic fluid, and pericardial fluid, *Acta Cytol.*, 10: 455~460, 1966.
- 10) Mavrommatis, F.S.: Some morphological features of cells containing PAS positive intracytoplasmic granules in smears of serous effusions, *Acta Cytol.*, 8: 426~439, 1964.
- 11) McGrew, E.A., et al.: The cytology of serous effusions, In *Compendium on diagnostic cytology* (Eds. Wied, G.L., et al.), Vol. 2, No. 2, 272~281, International Academy of Cytology, Chicago, 1973.
- 12) Melamed, M.R.: Introduction to cytology of the urinary tract, In *Compendium on diagnostic cytology* (Eds. Wied, G.L., et al.), Vol. 2, No. 2, 290~297, International Academy of Cytology, Chicago, 1973.
- 13) 中西功夫・他: 経皮胆管ドレナージ (PTCD) の胆汁細胞診, *日臨細胞誌*, 19: 147~152, 1980.
- 14) Naylor, B., et al.: The case for exfoliative cytology of serous effusions, *Lancet*, 1: 711~712, 1964.
- 15) Reynaud, A.J., et al.: A new filter for diagnostic cytology, *Acta Cytol.*, 11: 289~293, 1967.
- 16) Saccomanno, G., et al.: Concentration of carcinoma or atypical cells in sputum, *Acta Cytol.*, 7: 305~310, 1963.
- 17) Saccomanno, G., et al.: Development of carcinoma of the lung as reflected cells, *Cancer*, 33: 256~270, 1974.
- 18) 斎藤泰紀・他: 未発表.
- 19) 佐藤博俊・他: 新しい喀痰細胞診, サコマノ氏集細胞法の抗研式変法, *癌の臨床*, 25: 1461~1465, 1979.
- 20) Schwinn, C.P.: Preparatory techniques, In *Compendium on diagnostic cytology* (Eds. Wied, G.L., et al.), Vol. 2, No. 2, 284~289, International Academy of Cytology, Chicago, 1973.
- 21) 清水 進: 癌細胞の分離法に関する研究, 特に多層式重層遠心分離法による内科領域の細胞学的診断について, *日消誌*, 55: 11~23, 1958.
- 22) 梅津佳英・他: 吉田肉腫細胞の細胞保存についての実験的研究——内視鏡下選択的膀胱細胞診における塗抹標本作製法のために——, *日臨細胞誌*, 18: 170~176, 1979.
- 23) 矢谷隆一・他: 細胞鑑別における多糖類染色の活用, *日臨細胞誌*, 19: 73~81, 1980.