原 著

気管支ブラシ洗浄細胞診

——洗浄容器の改良を中心として——

東京医科大学外科¹⁾, 同 病院病理部²⁾

三浦 弘之¹⁾ 加藤 治文¹⁾ 小中 千守¹⁾ 河手 典彦¹⁾
 早田 義博¹⁾ 三浦 玲子¹⁾ 越川真理子²⁾ 海老原善郎²⁾

最近の中心型早期肺癌症例の増加により, 小病巣や生検鉗子の到達できない部位からの材料採取の必要性や, CIS や高度異型化生との鑑別の重要性から, 気管支鏡施行医の巧拙による差の少ない, より細胞数が多く, よりよい細胞診標本が必要となってきた。

そこで肺癌の細胞レベルでの診断率を向上させるため, 気管支ブラシの洗浄容器の改良と, それを用いた細胞診の有用性を検討した。直接塗抹標本と比較して, ブラシ洗浄標本は以下のような利点, 欠点が指摘された。利点: ① 採取細胞量が多い。② 均一に塗抹される。③ 固定状態がよい。(術者の巧拙による差が少ない。)④ オートスメアの使用により, 塗抹範囲が一定しており, スクリーニングが効率的である。⑤ 洗浄容器での材料保存が可能で, 必要に応じて他の染色法を用いることができる。欠点: ① 遠心の操作が増える。② 容器代がかかる。

気管支ブラシ洗浄細胞診は, 簡単で, 検査時間を延長させることなく, 弊害もなく, 肺癌の診断に寄与するところが大きい。

Key words : Lung—Brushing-washing cytology—Diagnosis

I. はじめに

気管支擦過塗抹標本の, じつに22%が, 出現細胞少数, 乾燥, 出血背景により不満足な標本であるとの報告がある⁶⁾。気管支鏡施行医のほとんどは細胞診断医ではなく, 検体として提出した標本の状態を知らない。した

Brushing-washing cytology — Improvement of the washing container —

¹⁾ Hiroyuki MIURA, M.D., Harubumi KATO, M.D., F.I.A.C., Chimori KONAKA, M.D., F.I.A.C., Norihiko KAWATE, M.D., Yoshihiro HAYATA, M.D., Reiko MIURA, C.T., I.A.C.

²⁾ Mariko ECHIKAWA, C.T., I.A.C., Yoshirou EBIHARA, M.D.

¹⁾ Department of Surgery and ²⁾ Pathology, Tokyo Medical College

論文別刷請求先 ☎160 東京都新宿区西新宿6の7の1 東京医科大学外科 三浦弘之
 平成元年2月10日受付
 平成元年2月27日受理

がって頻回の検査にもかかわらず, 不良検体のために陽性判定が得られず, 当惑する場面にあつたことがある。特に近年, 中心型早期肺癌症例が増えており, 小病巣からの材料採取の必要性, 生検鉗子では解剖学的に材料採取の困難な病巣からの材料採取の必要性, また CIS や高度異型化生との鑑別の重要性から細胞採取法の向上, すなわち術者の巧拙による差が少なく, 乾燥せず細胞数の多い標本を得るべく方法論の改善が必要である。

われわれは, 厚生省対がん戦略研究事業(天神班), がんの二次予防の効果的な実施における基礎的な研究の一環として, 肺癌の細胞レベルでの診断率を向上させるため, 気管支擦過による細胞診材料をより多く, より良い状態で保存する方法を検討したので報告する。

II. 材料および方法

1. 検体採取容器

Sacconanno の brush wash kit に改良を加えた, ス

図1 気管支ブラシ洗浄容器

図2 気管支ブラシ洗浄容器

図3 中蓋のスリット

リット付きの中蓋を持つ直径約1cm、長さ5.5cmの容器（松浪硝子社製、図1、2）を用いた。スリットには、あらゆる種類のブラシが無理なく通過できるように図3のようなデザインを施した。

2. 材料

当教室において擦過を行った肺癌症例10例（扁平上皮癌7例、腺癌、大細胞癌、小細胞癌各1例）と、気管支鏡的に気管支粘膜に発赤、微細顆粒状変化などの異常を認めた良性病変5例を用いた。

3. 方法

通常の気管支擦過細胞診を行い、スライドガラス4、5枚に塗抹後、サイトキープにて固定した。塗抹後のブラシはただちに容器内で中蓋のスリットを通し数回上下させ洗浄した。今回の検討では、容器内の固定液として70%イソプロピルアルコールを使用した。採取材料はオー

表1 出現細胞数

直接塗抹標本での出現細胞数を1とおいたときの
ブラシ洗浄標本での出現細胞数の割合

肺 癌		非 癌	
症例	Br : W	症例	Br : W
1	1 : 6.6	11	1 : 0.7
2	1 : 0.7	12	1 : 2.9
3	1 : 4.5	13	1 : 0.5
4	1 : 1.6	14	1 : 0.8
5	1 : 1.8	15	1 : 3.7
6	1 : 2.4	平均	1 : 2.7
7	1 : 0.9	症例1~7	扁平上皮癌
8	1 : 4.7	8	大細胞癌
9	1 : 3.9	9	小細胞癌
10	1 : 4.8	10	腺 癌

Br : 直接塗抹標本 W : ブラシ洗浄標本

トスメアを用いてスライドガラス上に塗抹し、直接塗抹標本とともに Papanicolaou 染色を施した。

同一標本より作成された直接塗抹標本およびブラシ洗浄標本から無作為に各々1枚取り出し、直接塗抹標本では、任意に5箇所を、洗浄標本からは4隅と中心の計5箇所から、200倍の倍率を用い細胞数を計測した。ただし計測には、明らかに上皮細胞と認められる細胞のみ測定し、組織球、白血球などの細胞は除外した。またクラスターを形成している場合は、その構成細胞を計測した。

III. 結 果

1. 出現細胞数

表1は、直接塗抹標本の細胞数を1とおいたときのブラシ洗浄標本中の細胞数の割合を出したものである。非癌症例では5例中2例で、ブラシ洗浄標本の方が直接塗抹標本より採取細胞数が多いが、肺癌症例では10例中8例でブラシ洗浄標本の方が出現細胞数が多い。

2. 癌細胞出現割合

表2は癌細胞出現割合を、直接塗抹標本とブラシ洗浄標本とで比較したものである。10例中6例で直接塗抹の方が出現率が高いが有意差はない。しかし個々の症例をみると、例えば症例6では直接塗抹標本で計測部位により0~65.3%、症例10では0~58.3%とかなりむらがあるのに対し、ブラシ洗浄標本では症例6で11.4~27.8%、症例10で6.5~24.3%と比較的均一に癌細胞が出現している。他の症例に関しては癌細胞出現割合の計測部位によるむらは2種類の標本間で際だった差はなかった。

3. 標本の状態

図 4 左は症例 1 の直接塗抹標本の高倍率, 右はブラシ洗浄標本の高倍率の像である。同症例のごとく固定のすぐれた症例では 2 種類の標本間に差はない。しかし図 5 左 (症例 5) のように固定が遅れた場合, 乾燥によりその組織型のみならず良悪性の判定に苦しむ症例もある。図 5 右は同症例のブラシ洗浄標本である。また図 6 左は症例 2 の直接塗抹標本であるが, ブラシによる出血が多いと, このように赤血球が多量に背景に付着してしまい出現細胞の少ない標本となる。図 6 右は症例 2 のブラシ洗浄標本である。

IV. 考 察

肺癌の増加は世界的な傾向であるが, ことにわが国では, その死亡率の増加が著しい。肺癌はその臓器特異性から早期発見が単純ではなく, 症状の出るころにはかなり進んでいる例が多い。1988 年から老人保健法で肺癌集検が施行できるようになったが, 胃や子宮に比べると十分なものではない。一方, 喀痰細胞診の普及にともない, 早期癌, 特に胸部 X 線写真上無所見肺癌の症例が増加している。東京医大では, マスコミュニケーションを媒体として肺癌検診の知識の普及をはかった 1980 年以降, 急激な増加が得られている¹⁾。

このような胸部 X 線無所見の肺癌に対しては, 気管支鏡検査がきわめて重要な役割を果たす。特に気管支擦過細胞診の診断率は 90% 以上とする報告者もあり^{4,5)}。

経気管支鏡的生検の診断率を上回っている。東京医大では, 中心型肺癌で気管支擦過細胞診の診断率が 92.6%, 生検は 91.8% とほぼ同率であるが, 末梢型肺癌はそれぞれ 76.1%, 70.0% と, 擦過細胞診の方が診断率が高い。この理由として ① 生検は一点のみの検索であるのに対し, 擦過細胞診は 1, 2 cm の範囲を網羅できる, ② 生検材料が小さく, 十分な病理検索材料とならない場合がある, ③ 生検の挫滅により変性に加わる, ④ 材料の固定が遅れることにより変性に加わる, などが上げられる。しかし一方では, Smith ら⁶⁾が指摘しているように, 擦過材料も, 出現細胞が少ない, 乾燥, 出血背景により, 満足のいく検体とならない場合がある。

さらに本院では長径 1 mm という早期肺癌も発見されており, このような小病巣からの材料採取や, 生検鉗子

表 2 癌細胞出現割合

症例	(Br, W)
1	59.5<76.7 (%)
2	4.8<13.6
3	12.2<17.7
4	27.4>15.2
5	10.0<17.6
6	31.7>21.6
7	57.6>54.1
8	27.0>16.7
9	94.4>91.8
10	14.5>14.4

Br: 直接塗抹標本

W: ブラシ洗浄標本

図 4 症例 1 (Pap. 染色, ×200)

左: 直接塗抹細胞像 右: ブラシ洗浄細胞像

図 5 症例 5 (Pap. 染色, $\times 200$)

左: 直接塗抹細胞像 右: ブラシ洗浄細胞像

図 6 症例 2 (Pap. 染色, $\times 200$)

左: 直接塗抹細胞像 右: ブラシ洗浄細胞像

では解剖学的に材料の取れない部位からの材料採取は、擦過細胞診が有力な武器となる。また CIS や高度異型化生との鑑別の重要性からも、より多くの材料をよりきれいな状態で採取することが必要である。しかし気管支鏡施行医およびその助手は細胞診断医であることは少なく、採取材料の良否を確認することは少ない。教育施設においては、新しい研修者が参画してしばらくの間は、標本の状態が悪くなるという事実も否めない。そこで術者の教育とともに、誰が行ってもきれいな標本ができる

ことが望ましい。

Sacomanno の brush-wash kit はスリット付きの中蓋をもち、擦過後の気管支ブラシをスリットを通して細胞収容容器内の固定液中で上下させることにより、ブラシに付着した細胞を容器内に掻き落とす機能を備えた容器である。採取細胞はそのまま固定されるため、標本の状態はきわめて優れている。しかしブラシ挿入孔のスリットは、擦過ブラシのブラシ部の直径よりも小さい均一幅に形成されているため、スリットの上部に細胞が落ち

てしまう可能性や、幅の大きなブラシでは操作がやりにくいなどの欠点があった。そこでわれわれは、スリットを図3のごとく幅の広い部位と幅の狭い部位とが連続したものを作製し、スリットの幅広部から容器内に挿入し幅狭部から引き出すことにより、あらゆる気管支ブラシでの操作を容易にするとともに、有効な細胞採取をはかった。

今回の検討では、肺癌症例では10例中8例が、非癌症例では5例中2例が洗浄標本の方が直接塗抹標本より採取細胞数が多かった。ここで注目すべき点は、洗浄標本が直接塗抹を行った後の検体で、本来捨てられてしまう部位にいかにも多くの細胞が残っているかということである。また癌細胞出現割合は、直接塗抹標本が多い症例が6例、洗浄標本が多い例が4例と有意差がない感じを受ける。しかし実際の標本上で、直接塗抹標本では癌細胞の出現のない部位から塊状を成して出現する部位までかなりむらがある。一方洗浄標本では、どの部位でもほぼ均等に癌細胞が出現している。しかも症例2のごとく、背景に血液が乗ってしまうと、直接塗抹標本では癌細胞出現割合は4.8%と少なく、残りのブラシには13.6%もの癌細胞が残っているという矛盾を生じている。また直接塗抹標本では、Smith⁶⁾らが指摘したごとく、標本乾燥例が1例、出血背景による細胞少数例が1例あったが、洗浄標本はこれらの欠点をカバーできる。さらに実際のスクリーニングにおいても塗抹範囲が一定の部位に限られているため、効率よいスクリーニングが可能である。しかし逆に、遠心という作業が増える欠点がある。またスリットを通して細胞を掻き落すため、細胞の機械的破壊が危惧されたが、実際問題としてこのような症例はなかった。費用がかかる欠点があるが、大量生産により安価化が期待できる。

今回の検討では、直接塗抹標本陰性、洗浄標本陽性という症例はなかったが、Kvale³⁾らは経気管支鏡的検体の正診率を比較し、直接塗抹標本で陰性、ブラシを生食中で洗浄した標本で陽性という症例が4例あったと報告している。このうち生検も陰性で、ブラシの洗浄標本のみで診断がついた症例は1例だけであったが、ブラシを洗浄するという操作は、検査時間を長引かせるものでなく、弊害もないため継続して行うべきであると述べている。

今後固定液を工夫することにより、Papanicolaou染色のみならず他の特殊染色や、さらにはブラシ洗浄検体を用いたDNA解析も可能と考えており、術前の気管支鏡的診断の段階である程度の予後推定ができるのではないかと考えている。

V. ま と め

気管支ブラシによる擦過材料の効率的活用のため、新しいブラシ洗浄容器の開発と、それを用いた細胞診の有用性を示した。以下のような利点、欠点が指摘された。

利点：① 採取細胞量が多い。② 均一に塗抹される。③ 固定状態がよい（術者の巧拙による差が少ない）。④ オートスメアの使用により、塗抹範囲が一定しており、スクリーニングが効率的である。⑤ 洗浄容器での材料保存が可能で、必要に応じて他の染色法を用いることができる。

欠点：① 遠心の操作が増える。② 容器代がかかる。

本論文の要旨は、第29回肺癌学会総会において発表した。

なお、本研究の一部は厚生省対がん10ヵ年総合戦略研究事業「がんの二次予防の効果的な実施における基礎的な研究」の援助によるものである。

Summary

Recently the number of central type early lung cancer is increasing. In these cases, it is of importance to obtain specimens by bronchial brushing from small lesions or from where forceps cannot reach. Furthermore differential diagnosis between cancer cells and cis or severe metaplastic cells is important. So the quality of the specimen obtained by bronchial brushing is necessary to help its diagnosis.

We developed a new brush wash kit and investigated its usefulness. Compared with conventional brushing cytology, brushing-washing cytology was found to have the following advantages 1. more number of cells, 2. better cellularity, 3. no dry specimens, 4. effective screening, 5. possibility of preservation of specimens for other special stains, and the following disadvantages 1. necessity of added process (centrifuge), 2. more expensive.

This method does not prolonged examination time and is harmless and is easy. This method has much diagnostic potential in the diagnosis of lung cancer.

文 献

- 1) 加藤治文・他：肺癌集団検診の方法と成果，外科，50：559～565，1988.
- 2) 加藤治文・他：穿刺生検細胞診，肺，臨床検査，31：1284～1290，1987.
- 3) Kvale, P.A., et al. : Diagnostic accuracy in lung cancer,

Chest, 69 : 752~757, 1976.

- 4) Matsuda, M., et al. : Bronchial brushing and bronchial biopsy : comparison of diagnostic accuracy and cell typing reliability in lung cancer, Thorax, 41 : 475~478, 1986.
- 5) Richardson, R., et al. : The use of fiberoptic broncho-

scopy and brush biopsy in the diagnosis of suspected pulmonary malignancy, Am. rev. resp. dis., 109 : 63~66, 1974.

- 6) Smith, M., et al. : Fine needle aspiration and endoscopic brush cytology, Acta cytol. : 456~459, 1980.
-