尿中剝離細胞の細胞遺伝学的検索

染色体観察の意義について

北海道大学医学部泌尿器科学教室 三 橋 裕 行
(主任: 辻 一郎教授)

CYTOGENETIC STUDY OF THE EXFOLIATED CELLS FROM UROTHELIAL TUMOR PATIENTS:

Observation of Chromosome of Exfoliated Cells

Hiroyuki Mitsuhashi

Department of Urology, Hokkaido University School of Medicine, Sapporo, Japan

(Director: Prof. I. Tsuji)

In order to know biological property of urothelial tumor and to support urinary cytology, cytogenetic study was performed on exfoliated cells from 40 urothelial tumor patients and 23 no tumor patients with other urological disease. Among the tumor patients, 20 had superficial papillary (low-stage) bladder tumor, 16 had invasive (high-stage) bladder tumor and 4 had ureter and renal pelvis tumor.

Cells, exfoliated in both urine and bladder washing fluid, were treated by a direct method using Colchicin.

Mitotic index (M.I.), incidence of dividing cells per 1,000 cells, was calculated, and chromosome analysis was achieved if adequate metaphase cells had been observed.

The results were as follows.

- 1) In the control patients the mean M.I. was extremely low. No metaphase cells were observed.
 - 2) In the urothelial tumor patients, the mean M.I. was significantly higher and it increased according to histological grade and stage, and in some patients it decreased after irradiation.
 - 3) Metaphase cells were observed in 14 low-stage bladder tumor, 10 high-stage bladder tumor and one renal pelvis tumor.
 - 4) In the low-stage bladder tumor, 5 of 7 grade 0 tumor had only diploid or near-diploid cells, but 6 of 7 over grade I tumor had polyploid cells and one of them had marker chromosome.
 - 5) Nine of 10 high-stage bladder tumor had polyploid cells and 4 of them had marker chromosomes.
- In conclusion, cytogenetic study of exfoliated cells provided a simple diagnostic aid for urothelial tumor.

要旨: 尿路腫瘍の生物学的悪性度判定と尿細胞診を補正補助する目的で、40例の尿路腫瘍患者と23例の他の泌尿器科疾患患者の尿中剝離細胞を用いて細胞遺伝学的検索を行なった。尿路腫瘍40例のうち、20例が表在性乳頭状 (low-stage) 膀胱腫瘍、16例が浸潤性 (high-stage) 膀胱腫瘍、4例が腎盂尿管腫瘍であった。

尿中および膀胱洗浄液中に剝離した細胞は Colchicin を用いて直接法によつて処理した。

細胞1,000個あたりの分裂細胞頻度、Mitotic index (M. I.) を算定し、適当な分裂中期細胞が認められた場合には、染色体分析を施行した。

- 1) 対照例では平均 M. I. は極めて低値であり、分裂中期細胞は全く認められなかった。
- 2) 尿路腫瘍例では対照に比べて有意に平均 M. I. は高く、組織学的 grade, stage に従つて高値を示した。又いくつかの例では放射線療法後に M. I. の低下を認めた。
- 3) 分裂中期細胞は low-stage 膀胱腫瘍14例、high-stage 膀胱腫瘍10例、腎盂腫瘍1例に認められた。
- 4) low-stage 膀胱腫瘍では、grade 0 7例中5例で2倍体又は2倍体附近の細胞のみを認め、grade 1以上の7例中6例に polyploid の細胞を認め、うち1例に marker 染色体を認めた。

5) 10例中9例の high-stage 膀胱腫瘍で polyploid の細胞を認め、うち4例に marker 染色体を認めた。

これらの結果より、剝離細胞の細胞遺伝学的検索が尿路腫瘍の簡便な診断法となる事が示された。

緒 言

尿路腫瘍、特に low-grade, low-stage の膀胱腫瘍の臨床経過、予後はその組織学的異型度と必ずしも平行しない¹⁾。

すなわち組織学的悪性度の低いと思われる乳頭腫や low-grade の乳頭状癌の中には再発を繰り返しているうちにより悪性度の高い浸潤癌となつていくものがあり、この様な症例を初診時の組織学的診断所見から予測・鑑別することは出来ない。こうしたいわゆる生物学的悪性度の高い腫瘍を早期に診断する方法の一つとして腫瘍細胞の染色体分析がある。

尿路腫瘍特に膀胱腫瘍の染色体分析は1967年の Lamb²⁾の報告以来、数多くなされているが、その大部分は手術的に採取した腫瘍組織を材料とした研究である。

一方簡単に採取出来る尿中剝離腫瘍細胞を用いた染色体分析の報告は少なく^{3,4)}、またこの方法を通常の細胞診の補正補助に用いたという報告はない。

我々は数年来尿路腫瘍の染色体分析を試みているが、特に剝離腫瘍細胞に注目し、その分裂指数算定と染色体分析が腫瘍の生物学的悪性度判定の一助として、どの程度利用出来るか否か、またこれと通常の尿細胞診との関連性などについて検討した結果、多少の知見を得たので以下に報告する。

対 象

1980年4月より81年末までの北大病院泌尿器科入院および外来患者のうち、膀胱腫瘍36例、腎盂腫瘍2例、尿管腫瘍2例、計40例(男子31例、女子9例)の尿路腫瘍患者を対象とした。

対照としては尿路腫瘍以外の各種泌尿器科疾患23例(男子19例、女子4例)を用いた。すべて成人例である。

方 法

イ. 男子の自排尿、女子のカテーテル尿を用いた場合と、ロ. 導尿後生理食塩水50~100mlを膀胱内に注入して数回 pumping した液を用いた場合とある。

直接法: 低濃度の Colchicin (0.2 μ g/ml) を直ちに尿又は pumping 液に加え、37℃で約3時間 incubate したのち、1,500rpm で5分間遠沈、上清をすて沈渣に0.075M の KCl 溶液を加えて約15分間低張処理する。Carnoi 液(メチルアルコール3:酢酸1)を加えて、

1,500rpm で5分間遠沈する操作を3回繰り返して細胞固定する。上清をすて沈渣に適当量の Carnoi 液を加えて細胞浮遊液を作り、充分に脱脂したスライドガラス上に滴下し乾燥させる。70%メチルアルコール中に数十秒つけた後、Giemsa 液(pH 6.8)で約5分間染色をする。又一部の症例ではスライドガラスを Carnoi 液で脱色後、Quinacrine 液を用いて Q-染色法を試みた。

標本の観察に際してはまず弱拡大で細胞1,000個につき分裂細胞が何個認められるかを調べ、すなわち Mitotic index (以下 M. I.) を算定し、良好な分裂中期細胞が認められた場合には強拡大で染色体数を算定し必要に応じて写真撮影をする。染色体数を算定出来る細胞が5個以上あつた場合には、染色体数の mode を調べた。

短期培養法: 一部の症例では Corchicin を加えずに沈渣細胞を抗生剤(ペニシリン、ストレプトマイシン混合液)で洗浄後、出来るだけ無菌的に培養液と牛血清を加えて CO₂-incubator にて24~72時間培養した後、前述の手順で染色体分析を試みた。

結 果

I. 尿路腫瘍以外の対照疾患患者

各症例の臨床 data は Table 1 に示したが、全例尿細胞診は陰性で内視鏡的に膀胱および尿道に腫瘍を認めず、IVP でも上部尿路に腫瘍を疑わせる所見は認められなかつた。

前立腺癌の2症例は肥大症として TUR 後、組織診断されたもので、尿道および膀胱への浸潤は認められなかつた。また腎癌の1例は完全に患側の腎機能が廃絶しており顕微鏡的血尿も認めなかつたのでこれも対照に加えた。

対照のうち尿路感染は急性2例、慢性7例の計9例(39%)に認められた。

材料として自排尿ないしカテーテル尿を主に用いたが、充分に剝離細胞が得られない場合には pumping を行なつた。

剝離細胞の M. I. は0から0.5まで平均0.07 $\pm$ 0.01と低く、また感染例は平均0.10 $\pm$ 0.01、非感染例は0.04 $\pm$ 0.01であつたが、有意差はなかつた(p<0.25)。—Table 6.

Table 1 Clinical data (control patients)

Case No.	Age	Sex	Clinical diagnosis	U. T. I.	M. I. *
1	71	M	Prostatic cancer **	—	0.5
2	74	M	B. P. H.	—	0
3	77	M	B. P. H.	+	0
4	48	M	Lt. renal stone	+	0
5	33	M	Prostatitis	+	0
6	30	M	Lt. ureteral stone	—	0
7	30	M	Rt. ureteral stone	—	0
8	52	M	Donor of renal transplant	—	0
9	63	M	B. P. H.	+	0
10	75	M	Prostatic cancer **	—	0
11	80	M	B. P. H.	—	0
12	75	M	B. P. H.	+	0
13	65	M	B. P. H. & bladder stone	+	0
14	58	M	B. P. H.	—	0
15	59	M	Rt. renal stone	—	0
16	66	M	B. P. H.	—	0
17	72	M	B. P. H.	—	0
18	57	M	Blt. renal stone	+	0
19	76	M	B. P. H.	+	0
20	58	F	Rt. renal bleeding	—	0
21	36	F	Acute cystitis	+	0.5
22	42	F	Acute cystitis	+	0.5
23	50	F	Rt. renal tumor	—	0

*: mitotic index per 1000 cells, **: postoperative diagnosis

pumping 5 回を含めて計28回材料採取を行つたが、剥離細胞に分裂中期細胞は全く認められなかつた。

II. 尿路腫瘍

尿路腫瘍全体の M. I. は平均4.13±0.59で、対照に比べて有意に高く(p<0.005)、かつ剥離細胞中に染色体分析可能な分裂中期細胞(以後分裂中期細胞とする)が計244個、1 症例につき平均9.9個認められた。

染色体分析の記載は、関根⁵⁾にならつて染色体数46を有するものみ2倍体、69のものを3倍体、92のものを4倍体という様にし、これらの前後のものをそれぞれ、低一、高一と、また前後にわたるものを一附近と表現した。mode は染色体数の最頻のものであり、前後を含めて腫瘍の ploidy を判定した。

A. 膀胱腫瘍

34例の膀胱上皮性腫瘍を表在性乳頭状腫瘍と浸潤癌

とに大別した。

I. 表在性乳頭状腫瘍

Table 2 に示したごとく全例 TUR で治療された乳頭状腫瘍で、いずれも筋層内への浸潤を認めない low-stage のものである。組織学的 grade は0度(乳頭腫)7, I 度11, II 度2となる。II 度の2例も腫瘍の大部分はI 度で一部にのみII 度の異型細胞構造を認めたものである。

20例中初発例が9 例、再発例が11例であり、単発腫瘍が13例、2 個以上の多発腫瘍7 例である。なお6 例はレ線学的に腫瘍による陰影欠損を認めたが、上部尿路に腫瘍を疑わせる所見を認めた例はなかつた。

④ 分裂中期細胞の発見率：染色体分析は全て直接法を用いて行ない20例中14例(70%)に分裂中期の剥離細胞が認められた。

Table 2 Clinical data (low stage bladder tumor patients)

Case No.	Age	Sex	Histology (grade)	Cytology (class)	M.I. *	Primary or recurrence	Multiple or single	Shadow defect	Treatment
1	59	M	I	V	1	P	M	+	TUR
2	58	M	I	II	1	P	M	—	"
3	76	F	0	II	2	R	S	—	"
4	72	M	0	IIIb	1	R	S	—	"
5	74	M	I > II	IIIb	4	R	S	—	"
6	52	M	0	I	1	P	S	—	"
7	83	F	0	I	1	R	M	—	"
8	45	M	0 > I	II	1	P	M	+	"
9	37	F	0	I	0.5	P	S	+	"
10	72	M	I > II	V	6	P	S	+	"
11	64	M	I	V	5	P	M	+	"
12	78	M	I	IIIb	1	P	S	—	"
13	66	M	0	V	1	R	S	—	"
14	66	M	I	V	1	R	M	—	"
15	65	M	I	II	5	P	S	—	"
16	59	M	I	IIIa	0.5	R	S	—	"
17	69	M	I	IIIb	0.5	R	S	—	"
18	48	M	I	I	4	R	S	—	"
19	49	M	I	IIIa	4	R	S	—	"
20	80	M	I	IIIa	7	R	M	+	"

*: mitotic index per 1000cells

材料の採取法別にみると、自排尿は15例で計34回採取し、4例の計4回(11.8%)に分裂中期細胞を計14個、1回平均3.3個認めた、pumpingは14例で計16回採取し、12例の計12回(75%)に、分裂中期細胞を計94個、1回平均7.8個認めた。すなわちpumpingの成功率は自排尿よりも有意に高く($p < 0.001$)、かつ得られた分裂中期の細胞数も多い傾向にあった($p < 0.25$)。

なお材料の採取回数は1例につき1回ないし数回平均2.5回であるが、全体の半数の10例では1回しか採取しなかった。1回のみ採取した10例中、自排尿の5例中2例に対しpumpingでは5例中5例に分裂中期細胞を認めており、やはりpumpingの方の成功率が有意に高かった($p < 0.05$)。

⑤ Mitotic index: Table 6に示したごとく0.5から5までで平均 2.40 ± 0.46 となり、これは対照に比べて有意に高値であった($p < 0.005$)。

剝離細胞のM.I.を腫瘍の組織学的grade、初発か再発か、単発か多発か、又腫瘍の大きさ等の面から検討

してみた。

grade I以上の群のM.I.は平均 3.08 ± 0.2 に対し、grade 0では平均 1.07 ± 0.17 と有意に差が認められた($p < 0.025$)。初発性腫瘍と再発性腫瘍を比べると前者は平均 2.15 ± 0.67 、後者は平均 2.30 ± 0.50 で有意差を認めず、また単発性腫瘍(平均 2.30 ± 0.50)と多発性腫瘍(平均 2.40 ± 0.90)でも有意差を認めなかった。

腫瘍の大きさをみる目安として膀胱造影での陰影欠損の有無で分けると、陰影欠損を認めるものでは平均 3.42 ± 1.09 、認めないものでは平均 1.90 ± 0.41 と前者の方が高値であるが有意の差はなかった($p < 0.10$)。

なお染色体分析可能な分裂中期細胞は認められなかったがM.I.は高値を示す例もあった。症例〔No. 20〕は再発性の多発性表在性乳頭状腫瘍で組織学的にはgrade Iであったが、M.I.は7と高値で分裂が盛んな生物学的に悪性度の高い腫瘍である事が示唆された。この症例は半年後に右下腹壁と左鎖骨下リンパ節への腫瘍転移を認めた。

Table 3 Chromosome analysis (low stage bladder tumor patients)

Case No.	Mode	Ploidy	Range of chromosome	Total cells counted
1	46	diploid	46~150	5
2	46	diploid	46~ 90	6
3	37	neardiploid	32~ 49	25
4	—*	—	0~ 90	4
5	—	—	40~ 90	3
6	—	—	41~ 43	2
7	—	—	30~ 40	3
8	46	neardiploid	40~ 49	8
9	—	—	45	1
10	71	hypertriploid	58~130	15
11	—	neardiploid	37~ 99	13
12	—	—	50~100	3
13	74	neartriploid	65~ 77	9
14	46	neardiploid	44~ 46	10

*: undetermined

◎ 染色体分析：結果は Table 3 に示した。

分裂中期細胞は 2 から 25 個、1 例につき平均 7.6 個認められたが、5 個未満のものも約 1/3 あった。

mode および ploidy を調べる事が出来たのは 8 例 (57.1%) であるが、組織学的 grade 別にみると grade 0 の 7 例ではうち 2 例が 2 倍体附近に、1 例が 3 倍体附近に mode および ploidy をもっていた。それ以外の 4 例は分裂中期細胞数が少なかつたため、mode や ploidy は判定不能であるが、3 例は 2 倍体ないし 2 倍体附近の細胞を認め、残り 1 例は 4 倍体以上の細胞を認めた。grade I 以上の 7 例では 4 例が 2 倍体又は 2 倍体附近に mode および ploidy をもつが、1 例を除いて染色体数は分散しており、2 例に 4 倍体以上の細胞が、1 例に低 4 倍体の細胞が認められた。また 1 例は高 3 倍体に mode および ploidy をもつが染色体数が分散しており、半数が 4 倍体以上の細胞であり、かつ marker 染色体も認められた。その他の 2 例では mode および ploidy は判定不能であるが、いずれも 4 倍体以上の細胞が認められた。

④ 尿細胞診：通常の細胞診は 20 例中半数の 10 例が陽性 (class V 6 例, IIIb 4 例) であつた。grade I 以上のものの陽性率は 54% で、grade 0 の 28.5% より高かつたが、有意差ではなかつた ($p<0.10$)。

以下代表例を示す。

〔No. 8〕は 45 歳男子、膀胱右側壁に小豆大から拇指頭大の多発性の乳頭状有茎性腫瘍があり、TUR 施行。組織学的には大部分は grade 0 であるが一部に (Fig. 1-a) のごとき grade I もある移行上皮癌であつた。

膀胱鏡検査時に pumping し剝離細胞中に分裂中期細胞を 8 個認めた。染色体数分布をみると mode は 46 であり、ploidy は 2 倍体附近であつた (Fig. 1-b)。 (Fig. 1-c) に示した分裂中期核板は染色体数 46 本で核型分析の結果、明らかな異常染色体は認められなかつた。

この症例は組織学的には grade I の部分も認められるが、剝離細胞の染色体分析の結果からは生物学的悪性度は比較的低いものと考えられる。

〔No. 10〕は 72 歳男子、左尿管口外側上方に 1×1cm の単発性の乳頭状有茎性腫瘍があり、TUR 施行。組織学的には大部分 grade I の移行上皮癌で一部に Fig. 2-a のごとき Grade II の部分があつた。

膀胱鏡検査時に pumping し剝離細胞中に分裂中期細胞を 15 個認めた。染色体数分布をみると染色体数はかなり分散しているが、mode は 71 であり ploidy は高 3 倍体であつた (Fig. 2-b)。Fig. 2-c に示した分裂中期核板は染色体数 150 本であり、marker 染色体のほか染色体の切断も認められた。

この症例は組織学的にも一部 grade II の部分があり、又染色体分析の結果から生物学的悪性度の比較的高いものであると考えられる。

〔No. 13〕は 65 歳男子、1978 年に右尿管腫瘍 (grade I, stage A) のために右腎尿管全摘除術が施行された。その後 3 回膀胱内腫瘍は再発し TUR が施行され、いずれも組織学的には grade I であつた。1981 年 10 月膀胱後壁に 5×5mm の単発性の乳頭状腫瘍が再発し、これは組織学的には grade 0 (乳頭腫) (Fig. 3-a) と診断された。

この症例も膀胱鏡検査時に pumping し剝離細胞中に分裂中期細胞を 9 個認めた。染色体数分布をみると mode は 74 で ploidy は高 3 倍体であつた (Fig. 3-b)。

Fig. 3-c に示した分裂中期核板は染色体数 74 本であるが、異常染色体の有無は不明である。

この症例は組織学的には grade 0 であるが染色体分析の結果は良性乳頭腫よりも癌を思わせる。TUR 後も現在尿細胞診は class V であり臨床経過からみて carcinoma in situ の存在も否定出来ないものと思う。

II. 浸潤性膀胱癌

各症例の臨床 data は Table 4 に示したが、いずれ

Table 4 Clinical data (high stage bladder tumor patients)

Case No.	Age	Sex	Histology (grade)	Cytology (class)	M.I. *	Treatment
21	67	M	III	V	12	TUR-irradiation
22	66	F	III	V	2	Irradiation-cystectomy
23	54	M	IV	V	9	"
24	68	F	III	V	2	"
25	61	F	III	V	8	"
26	46	M	III	V	15	"
27	64	F	III	V	20	"
28	61	M	III	V	5	"
29	54	F	III	V	6	"
30	64	M	II	IIIb	5	TUR-irradiation
31	69	M	III	V	2	TUR-irradiation
32	74	M	III	IIIb	1	TUR
33	60	F	SCC	IV	0.5	Part. cystectomy
34	40	M	SCC	V	2	Irradiation
35	78	M	III	V	3	TUR
36	59	M	III	V	2	TUR

*: mitotic index per 1000cells

Table 5 Chromosome analysis (high stage bladder tumor patients)

Case No.	Mode	Ploidy	Range of chromosome	Total cells counted
21	—*	—	40~ 90	4
22	—	nearpentaploid	60~132	6
23	42	neardiploid	32~ 76	35
24	—	—	86	1
25	50	hyperdiploid	35~115	60
26	105	hypopentaploid	58~112	10
27	130	hypohexaploid	87~157	20
28	—	—	104	1
29	—	—	103	1
30	—	—	30~ 40	2

*: undetermined

も乳頭状又は非乳頭状の high-stage の浸潤性癌であり、組織学的には grade II 又は III であった。16例中半数の 8 例は放射線照射後に膀胱全切除術が施行され、残りは膀胱保存的ないし姑息的に治療されたものである。16例中15例は初発例で、また14例は膀胱造影で陰影欠損を認めた。

剥離細胞の短期培養法を 4 例に試み 2 例に分裂中期細胞を認めたが、期待した程の良い状態の染色体標本は得られなかった。よつて以後の染色体分析はすべて直接法を用いて行なつた。

④ 分裂中期細胞の発見率：材料の採取方法および採取回数をみると自排尿は16例で計41回採取して、16例の計16回(39%)に分裂中期細胞を計149個、1回平均9.3個認めた。

pumping は 3 例で計 7 個採取して、2 例の計 3 回(43%)に分裂中期細胞を計30個、1回平均10個認めた。すなわち low-stage 群の場合と異なり、自排尿と pumping とで成功率も細胞数も有意差を認めなかった。自排尿での成功率は low-stage 群よりも有意に高く ($p<0.01$)、分裂中期細胞数も多い傾向にあった。

pumping でも成功率は高くならないが ($p<0.10$)、分裂中期細胞数も多い傾向にあった。

材料の採取は 1 例につき平均2.9回であるが、low-stage 群の場合と同様に全体の半数では 1 回しか採取しなかった。いずれも 1 回の自排尿だけで分裂中期細胞を認めたのは 2 例のみ(25%)で、low-stage 群の場合と同様に 1 回のみの採取では分裂中期細胞が認められない事の方が多かつた。一方症例によつては pump-

Table 6 Mitotic index (control & urothelial tumor patients)

		No. of Pat.	Range of M.I.	Mean M.I. ±S.E.
I	control	23	0 ~ 0.5	0.07 ± 0.10*
	U.T.I.(+)	10	0 ~ 0.5	0.10 ± 0.06
	U.T.I.(-)	13	0 ~ 0.5	0.04 ± 0.03 (p<0.25)
II	low stage B.T.	20	0.5 ~ 7.0	2.40 ± 0.46**
	grade 0	7	0.5 ~ 2.0	1.07 ± 0.17
	grade I, II	13	1.0 ~ 7.0	3.08 ± 0.62 (p<0.025)
	primary	10	1.0 ~ 6.0	2.15 ± 0.67
	recurrence	10	0.5 ~ 7.0	2.60 ± 0.62 (n.s.)
	multiple	7	1.0 ~ 7.0	2.40 ± 0.90
	simple	13	0.5 ~ 6.0	2.30 ± 0.50 (n.s.)
	shadow defect (+)	6	0.5 ~ 7.0	3.42 ± 1.09
	shadow defect (-)	14	1.0 ~ 5.0	1.90 ± 0.41 (p<0.10)
III	high stage B.T.	16	0.5 ~ 20.0	6.16 ± 1.29***
IV	ureter & renal pelvic T.	4	0.5 ~ 5.0	1.63 ± 0.95****

*: ** (p<0.005), *: *** (p<0.005)
*: **** (p<0.005), **: *** (p<0.005)

Table 7 Mitotic index (before & after irradiation)

Case No.	M.I. *		Residual tumor
	before	after	
23	9	3	+
24	2	0	—
25	8	0	—
26	15	0	+
27	20	1	—

*: mitotic index per 1000cells

ingを施行しても壊死組織からの細胞のみで分裂細胞は認められず、この傾向は特に扁平上皮癌の場合著明であつた。

⑤ Mitoti index : Table 6 に示したごとく0.5から20までで平均6.16±1.29となり、対照およびlow-stage群に比べて有意に高かつた (p<0.005, p<0.01)。

5例で放射線照射前後の M. I. を比べる事が出来た、Table 7 に示したごとく照射前は平均10.8±2.8であつたが、照射後は平均0.8±0.5と有意の低下がみられた (p<0.01)。なお全摘膀胱に腫瘍が残存していた

2例の照射後の M. I. はそれぞれ3と0で、残存腫瘍のなかつた3例では2例が0で1例が1であつた。

症例〔No. 27〕の放照線照射前後の剝離細胞の弱拡大像を示すと、照射前 (Fig. 4-a) には分裂細胞がいくつか認められるが、照射後 (Fig. 4-b) には変性した細胞と扁平上皮細胞のみで分裂細胞は認められない。また照射後の剝離細胞中には分裂中期細胞は全く認められなかつた。

◎ 染色体分析 : 結果は Table 5 に示した。分裂中期細胞は1から60個で1例につき平均14個認められた。5個未満のものが半数あり、mode および ploidy を調べる事が出来たのは5例 (50%) である。4倍体以上の mode および ploidy をもつものが3例で、いずれも100本以上の染色体をもつ細胞が認められた。一方2倍体又は2倍体附近にもつものは2例で、うち1例に100本以上の染色体をもつ細胞が、他の1例に高3倍体の細胞が認められた。

mode および ploidy を判定出来なかつた5例では、1例で低2倍体の細胞のみが認められたが、残り4例ではすべて4倍体附近又は4倍体以上の細胞が認められた。

かつ10例中4例 (40%) に marker 染色体が認められた。

Fig. 4 Urinary sediment cells of case 27.

a Before irradiation, 3 dividing cells are indicated by arrow.

b After irradiation, there is no dividing cell.

図はそれぞれ low-stage で grade 0 (Fig. 5-a), low-stage で grade I, II (Fig. 5-b) の乳頭状腫瘍, および high-stage, high-grade の浸潤癌 (Fig. 5-c), それぞれの全ての分裂中期細胞の染色体数を表示したものであるが, 2 倍体域の細胞は grade 0 の群でその割合が最も多く, grade が進むにつれて 2 倍体域の細胞の割合は低くなる。また逆に grade, stage の高いもの程, 高 4 倍体以上の細胞の割合が多くなっていることが明らかである。

④ 尿細胞診: 通常の尿細胞診は16例すべてが陽性 (class V13例, class IV 1例, class IIIb 2例) で, low-stage 群と比べて陽性率は有意に高く ($p < 0.01$), また class V の占める割合も多い傾向が認められた。

以下代表例を示す。

〔No. 23〕は54歳男子, 膀胱内びまん性広基性腫瘍があり, 生検の結果 Fig. 6-a に示したとき grade III

Table 8 Clinical data (ureteral & renal pelvic tumor patients)

Case No.	Age	Sex	Cytology (class)	M.I. *	Clinical diagnosis
37	51	M	IIIa	5.0	Rt. renal pelvic tumor
38	66	M	V	0.5	Rt. ureteral tumor
39	65	M	V	0.5	Rt. ureteral tumor
40	50	F	V	0.5	Lt. renal pelvic tumor

*: mitotic index per 1000 cells

の移行上皮癌であり, 術前照射4,000rad 施行後1980年12月17日膀胱全摘除術施行。

放射線照射前に自排尿を採取して, 剝離細胞中に分裂中期細胞を35個認めた。染色体数分布をみると mode は42で, ploidy は低2倍体であるが, 約10%の細胞が3倍体附近にあつた (Fig. 6-b)。

Fig. 6-c に示した分裂中期核板は染色体数65本で, 核型分析の結果7本の marker 染色体および3本の微小染色体と思われるものが認められた。

この症例は染色体分析の結果から ploidy が低2倍体であるが, marker 染色体を認める細胞もあり, 生物学的悪性度の高い腫瘍と思われる。

〔No. 26〕は46歳男子, 他医で TUR を受け Fig. 7-a のとき grade III の移行上皮癌と診断され, 当科へ送られた。

術前照射4,000rad 施行後, 1981年3月4日膀胱全摘除術施行。

放射線照射前の自排尿中には充分な剝離細胞が認められなかつたために pumping して, 分裂中期細胞を10個認めた。染色体数分布をみると mode は105で ploidy は低5倍体であつた (Fig. 7-b)。

Fig. 7-c に示した分裂中期核板は染色体数約100本で, marker 染色体も認められる。

この症例も染色体分析の結果から生物学的悪性度の高い腫瘍であると思われる。

B. 腎盂尿管腫瘍

各症例の臨床 data は Table 8 に示した。

腎盂腫瘍の2例には腎尿管摘除術が施行され, 尿管腫瘍の2例には姑息的に放射線照射が施行された。4例中3例は自排尿を, 1例は回腸導管尿を用いた。

剝離細胞の M. I. は0.5から5までで平均1.63±0.95であり対照に比べて有意に高かつた ($p < 0.005$)。

分裂中期細胞は1例のみに認められた。この症例〔No. 37〕は51歳男子で, 1977年に再発性膀胱腫瘍のため, 膀胱全摘除術および回腸導管造設術を施行された。

Fig. 5 Summary of chromosome numbers in bladder tumor.

a Superficial pap. tumor (Grade 0)

b Superficial pap. tumor (Grade I, II)

c Invasive ca. (Grade II, III)

1980年2月に右腎結石のために腎盂切石術が施行された。その後IVPにて右腎盂腎杯の陰影欠損を認めたが、尿細胞診は陰性のために切石術の影響によるものとも考えたが、腫瘍の疑いが強くなり1980年7月23日、右腎摘除術施行、組織学的に Fig. 8-a のごとき grade III の移行上皮癌であつた。

術前回腸導尿管尿の剝離細胞中に計3個の分裂中期細胞が認められ、2個は染色体数65、1個は染色体数100であつた。

Fig. 8-b に示した分裂中期核板は染色体数65のもので異常な大型の染色体も認められる。なおこの症例では手術時に採取した組織を用いて染色体分析した結果、染色体数の mode は65で、剝離細胞中に認められた分裂中期細胞が腫瘍細胞である事を裏付ける所見で

あつた。

考 按

腫瘍細胞に多様な染色体異常がみられる事はよく知られているが、このことが腫瘍の発生ないし増殖などにどのような意義をもつかについては充分な結論は得られていない。

腫瘍細胞の染色体を調べる目的は大別して2つある。第1の目的はある種の腫瘍について共通の染色体異常を発見し、腫瘍の発生、増殖、転移等にどの染色体、すなわち遺伝子が関与しているかを調べる事である。そのためには多数の症例について、出来るだけ詳細に分染法を用いて調べる必要がある。

この分野では1960年 Nowell, Hungerford⁹⁾によつて、慢性骨髄性白血病(CML)に共通な染色体異常と

Fig. 1 (Case 8)

a Histopathological appearance. Well differentiated transitional cell carcinoma (Grade 0>I).

c Metaphase plate and karyotype. The chromosome number is 46, abnormal chromosome is not apparant.

b Distribution of chromosome numbers. The modal number is 46 and the ploidy is neardiploid.

Fig. 2 (Case 10)

a Histopathological appearance. Moderately differentiated transitional cell carcinoma (Grade I>II).

b Distribution of chromosome numbers. The modal number is 71 and the ploidy is hypertriploid.

c Metaphase plate. The chromosome number is over 100, marker chromosome (M) and breakage (B) are indicated by arrow.

Fig. 3 (Case 13)

a Histopathological appearance. Well differentiated transitional cell carcinoma (Gade 0).

b Distribution of chromosome numbers. The modal number is 46 and the ploidy is neardiploid.

c Metaphase plate. The chromosome number is 74, abnormal chromosome is not apparant.

Fig. 6 (Case 23)

a Histopathological appearance. Poorly differentiated transitional cell carcinoma (Grade III).

b Distribution of chromosome numbers. The modal number is 42 and the ploidy is hypodiploid.

c Metaphase plate and karyotype. The chromosome number is 65, 7 marker chromosome (M) and 3 possible double minutes (?) are present.

Fig. 7 (Case 26)

a Histopathological appearance. Poorly differentiated transitional cell carcinoma (Grade III)

b Distribution of chromosome numbers. The modal number is 105 and the ploidy is hypopentaploid.

c Metaphse plate. The chromosome number is over 100, marker chromosome (M) is indicated by arrow.

Fig. 8 (Case 37)

a Histopathological appearance. Poorly differentiated transitional cell carcinoma (Grade III)

b Metaphase plate. The chromosome number is 65, large abnormal (possible marker) chromosome is indicated by arrow.

して発見された Ph' 染色体がよく知られており、これは当初 No. 21 染色体の長腕欠失と考えられていたが、1970 年代に入つて分染法の発達により、No. 9 と No. 22 の両染色体長腕間の転座であることが発見され (Rowley¹⁷⁾, 1973), CML の診断、治療・予後の判定に大いに役立つ。他の血液疾患でも様々な特異的な染色体異常が報告されているが、腫瘍全体からみればこれら血液疾患の場合はむしろ例外的である。固形腫瘍では Meningioma で No. 22 染色体の異常が認められる⁸⁾他に、二、三の腫瘍に関する報告も散見されるが、尿路腫瘍をはじめとして大部分のヒトの固形腫瘍ではその腫瘍に特有の染色異常は認められていない。その理由として、固形腫瘍の染色体分析が血液や骨髓を用いた場合に比べて技術的に難しいということの他に、材料を入手しにくいということもあげられる。

固形腫瘍では原発巣を手術的に切除又は生検したものを用いる他に、しばしば転移巣や腹水・胸水などが用いられ、このような場合当然腫瘍はかなり進行した状態であり、2 次的な複雑な染色体異常を伴っている場合が多く、かりに初期段階では共通の染色体異常が存在したとしても隠されてしまう可能性がある⁹⁾。また原発巣を材料としても診断が困難な部位のものは初期癌でない場合が多い。

この点、膀胱腫瘍は内視鏡的操作で容易に初期の腫瘍を採取することが出来るので、共通の染色体異常が発見される可能性は他の部の腫瘍よりも高いかも知れない。

第 2 の目的は染色体分析が腫瘍の生物学的悪性度を判定する一助とならないかということで、腫瘍の早期診断、臨床経過および予後の判定に役立てようとするわけである。

現在尿路腫瘍の染色体検査は主として第 2 の目的で行なわれている。膀胱腫瘍のうち、特に low-grade, low-stage の乳頭状腫瘍は一般に多中心性発生傾向が強いいため個々の腫瘍を TUR で完全に切除しても高率に頻回再発を来し、その一部は多年月の経過中に high-grade の浸潤癌となることが知られている。

この意味で光顕レベルでは同一に見える low-grade の膀胱腫瘍の生物学的悪性度を予測する方法の開発が強く要望されている。その方法としては現在の所、ABH 同種抗原検索、電顕による微細構造の観察、核 DNA の定量等の方法があり、染色体分析もその一つである。

しかし初期の小さな膀胱腫瘍の場合は手術的に採取

した材料でも染色体分析を行うのに充分な量でない場合がある。又肉眼的に腫瘍の存在がはつきりしない carcinoma in situ (CIS) や silent tumor¹⁰⁾の場合もある。こうした場合に剝離した腫瘍細胞を用いれば、材料は容易にかつ何度でも手に入れる事が可能である。

我々は手術的に採取した腫瘍組織は主として前述の第 1 の目的に用いることとし、技術的には難しいが良好な染色体の得られる短時間の組織培養を行なつて詳細な染色体分析を行なっている。

一方剝離細胞を用いる場合には無菌的操作が比較的難しいために、我々は直接法を主に用いている。直接法は技術的には比較的容易である反面分裂細胞が充分でない場合があり、かつ得られた染色体も短期培養法に比べて条件がよくないことが多く、したがって詳細な染色体分析には余り適していない。ただし直接法は腫瘍組織を用いた染色体分析が成功しなかつた場合の補助として有用であり、また術前診断や経過観察の場合通常の尿細胞診の補助としての意義もある。

① ヒト尿路上皮の細胞回転

従来腫瘍以外のヒトの尿中剝離細胞を細胞遺伝学的立場で本格的に調べたものは見当たらない様である。正常のヒトの尿中の剝離細胞中にどの位の頻度で分裂細胞が含まれる可能性があるのか、この点についてまずヒトの尿路上皮の細胞回転を知る必要がある。

文献的にみると、Pringle ら¹¹⁾が、正常のヒト膀胱粘膜で分裂細胞の認められる頻度は約 0.01% であると報告しており、Hainau ら¹²⁾は、³H-Thymidine の細胞内の取込みよりみて正常の膀胱粘膜の分裂頻度は 0.12% で、細胞回転は 520 日であるとしている。

ヒト以外の哺乳類については、Clayson¹³⁾、Pringle¹¹⁾、Levi¹⁴⁾等がマウス膀胱の分裂細胞は 0.1% 位の頻度で、DNA の合成も遅く尿路上皮細胞の平均寿命は 50~200 日位としている。Sharief ら¹⁵⁾はイヌ、ブタ、ヒヒについて分裂細胞の頻度はいずれも約 0.01% であると報告している。すなわちヒトを含めて哺乳類では正常の尿路上皮の分裂細胞の割合はかなり低く、したがって剝離細胞中にも分裂細胞が認められる可能性は極めて少ないものと思われる。

なお炎症や外傷の場合は組織修復のために細胞分裂が盛んになるといわれているが、Pringle ら¹¹⁾は炎症下の膀胱粘膜で分裂細胞の頻度は約 0.08% であるとし、Hainau ら¹²⁾も炎症のある組織とない組織での ³H-Thymidine の取り込みに差はみられなかつたとして

おり、今回の我々の検討でも尿路感染の有無によつて剥離細胞中の分裂細胞の頻度に差を認めなかつた。ただし我々の急性炎症例は2例のみであり、今後さらに症例を増やすとともに剥離細胞のみでなく、炎症組織自体を採取して検討を加える必要がある。

② 尿路腫瘍剥離細胞の Mitotic index

Pringle ら¹⁴⁾は尿路腫瘍における分裂細胞の頻度は約0.2%で、正常の膀胱粘膜の約20倍であるとしている。Fulken ら¹⁶⁾によると分化型、低分化型、未分化型の膀胱腫瘍の分裂細胞の頻度はそれぞれ、0.13%、0.48%、1.31%で組織学的悪性度と相関していたという。

Hainau ら¹²⁾も膀胱腫瘍の³H-Thymidine の取り込みは組織学的 grade に一致して増加し、特に腫瘍表層で取り込みが強いことを報告している。

剥離細胞の M. I. が実際の尿路腫瘍の分裂状態をどの程度反映しているかについては更に今後の検討を要するが、今回の我々の研究によると腫瘍の場合は非腫瘍対照群に比べて有意に M. I. が高く、また同じ膀胱腫瘍の中でも組織学的 grade とある程度相関して M. I. が高くなっている結果がえられており、剥離細胞の M. I. が腫瘍の生物学的悪性度の1つのメルクマールとなる事が示唆された。Veenema¹⁷⁾は組織学的に分化型の膀胱腫瘍でも約2割は高い DNA 合成能を示すものがありこの場合予後不良であるという。今回の我々の検討でも組織学的に low-grade でも M. I. が高かつた1例の予後が不良であつたことは注目されてよろう。

また放射線照射後に有意に M. I. の低下をみたことは、剥離細胞の M. I. 算定が放射線療法の効果判定の一手段となる可能性をも示唆している。

③ 剥離細胞中の分裂中期細胞

前述のごとく腫瘍以外の疾患では尿路上皮の細胞回転が遅く、剥離細胞中の分裂細胞の頻度も極めて低いために、染色体分析の可能な分裂中期細胞を認める確率も極めて低い。腫瘍の場合は分裂頻度は low-grade のものでも正常の尿路上皮に比べて10~20倍高く、当然剥離細胞中に染色体分析が可能な分裂中期細胞を認める確率も高くなるはずである。

逆に言えば剥離細胞中に分裂中期細胞を認める場合には、細胞の分裂頻度が高い事を意味するわけである。特に今回の検討で high-grade, high-stage の膀胱腫瘍の方が low-grade, low-stage のそれよりも自排尿中の剥離細胞で分裂中期細胞を認める頻度が高かつたこ

とは、悪性度が高い程腫瘍の分裂が盛んであることの反映である。ただし余り分裂が盛んになると腫瘍の表面が壊死におちいかえつて分裂細胞を認めることが少なくなる場合も当然あるわけで、この場合は剥離細胞を用いる方法の限界となる。

なお正常のヒトの尿路上皮から極く低い頻度ではあるが分裂中の細胞が尿中に剥離する可能性も完全には否定出来ないので、次にヒトの正常尿路上皮細胞の ploidy について検討を加えてみる。

④ ヒト正常尿路上皮の ploidy について

核 DNA 量の測定によるヒト正常膀胱粘膜の ploidy に関する報告は文献上いくつかみられるが、報告者により意見が異なっている。

以前は Leuchtenberger (1954)¹⁸⁾, Levi (1969)¹⁹⁾らにより polyploidy であると報告されていたが、最近の Fossa (1975)²⁰⁾, Tribukait (1978)²¹⁾, Jakobson (1979)²²⁾, 星ら (1980)²³⁾によると大部分が2倍体であつて4倍体以上の細胞は殆んど認められないとされている。

また、Sandberg (1977)²⁴⁾は75例のヒトの正常の膀胱粘膜を短期培養法を用いて染色体分析し、90%以上の細胞が2倍体であるとし、同時に52例の男子の正常膀胱粘膜の Y-body がすべて1個のみであつたことも2倍体を裏づける所見としている。

星ら²³⁾は膀胱炎例での尿中剥離細胞の核 DNA 量の測定をし、正常例に比べて分散傾向は強いが、4倍体以上のものは殆んど出現しなかつたという。炎症例の剥離細胞の染色体分析の報告は文献的にみあたらないので比較出来ないが、我々の結果では分裂中期細胞は全く認められなかつた。これは前述した様に炎症例でも分裂細胞の頻度が低い他に、沈渣中に多核白血球、細菌等が多数含まれているため、染色体分析を行なうには余り条件が良くないということも考えねばならず、したがつて炎症の場合の尿路上皮の ploidy を決定するためには今後直接組織を採取して調べる必要がある。

炎症の場合の ploidy は今の所はつきりした結論は得られていないが、少なくとも正常の場合には殆んど2倍体で、かりに尿中剥離細胞の中に染色体分析可能な分裂中期細胞が認められたとしてもそれは2倍体のはずである。

⑤ 腫瘍の生物学的悪性度判定について

今回の我々の目的の1つは手術前の腫瘍染色体分析により、腫瘍の生物学的悪性度判定が可能か否かを検

討することである。そのためには手術的手段によらない剝離細胞を用いる方法が適しており、しかもこの方法は何度も反映して出来る利点がある。特に pumping 等の機械的操作を用いない自排尿中の剝離細胞を用いて染色体分析が出来れば最適である。

しかし low-grade, low-stage の膀胱腫瘍の場合は分裂が余り盛んでないことや、腫瘍表面から腫瘍細胞の膀胱程度が high-grade, high-stage のものに比べて弱い²⁵⁾こと等の理由から自然に剝離した細胞中には十分な分裂中期細胞を認めない場合が多い。その場合には pumping を施行し十分な数の分裂細胞を集めることが必要であるが、この場合でもなるべく検査回数を減らすために、我々は原則として膀胱鏡検査施行時に同時に行なう様にしている（膀胱鏡の sheath は Nelaton catheter より内径が大きいのでより効率的に剝離細胞が得られる）。

表在性の膀胱乳頭状腫瘍のうち grade 0 の 7 例中 5 例は 2 倍体および 2 倍体附近の細胞のみが認められたが、3 倍体附近および 4 倍体以上の異数性の細胞が認められたものも各 1 例ずつあった。この結果は、膀胱腫瘍は 2 倍体として発生するという説¹⁹⁾や low-grade のものには 2 倍体のものが多いという報告^{2)26)~30)}に一致するとともに、組織学的診断と生物学的悪性度とが必ずしも平行しない可能性をも示唆している。Greene ら¹⁾は良性乳頭腫でも 22% が再発し、10% が浸潤癌となると報告しており、今回の我々の結果で grade 0 で異数性の細胞を有するものの臨床経過を今後注目して追求したい。

grade I 以上の low-stage の膀胱乳頭状腫瘍では 7 例中 1 例では 2 倍体附近の細胞のみが認められたが、残りの 6 例はすべて 4 倍体又は 4 倍体附近の異数性の細胞を認め、染色体数の分散が大きいものや中には marker 染色体を認めるものもあり、大部分のものは明らかに生物学的により悪性のものと考えられる。Falor ら^{31)~33)}は腫瘍の生物学的悪性度の指標としては marker 染色体の有無が重要で、marker 染色体が認められたものは浸潤傾向が強いとしている。したがって術前に剝離細胞の染色体分析で marker 染色体が認められたものは、組織学的には low-grade であつても特に十分な経過観察が必要である。

high-grade, high-stage の浸潤性膀胱腫瘍例では組織学的悪性度と生物学的悪性度が比較的良く一致しており、また腫瘍が大きく手術時に比較的多くの材料を入手し易いこともあつて、詳細な染色体分析の報告も

多い。Sandberg²⁴⁾は浸潤癌では染色体数の増加と marker 染色体を伴うことが多いと報告しており、又 Lamb²⁾, Spooner³⁴⁾らも同様の結果を報告している。今回の我々の剝離細胞を用いた high-stage 例もこれらと同様の成績であり、2 倍体又は 2 倍体附近の細胞も認められるがその割合は low-stage のものに比べて著しく低く、10 例中 9 例に 4 倍体以上の異数性の細胞を認め、約半数に marker 染色体を認めた。なお high-stage 例では染色体数の分散が大きい場合にはより生物学的悪性度が高いとする佐々木²⁶⁾の報告に一致すると思われた。要するに high-stage 例の場合は以上のごとく剝離細胞を用いた染色体分析でも明らかな異常を認めることが容易であつた。

⑥ 尿細胞診と関連性

通常の尿細胞診の欠点として、標本作製までに比較的時間がかること、判定が必ずしも客観的でないこと、腫瘍の組織学的 grade と必ずしも相関しないこと³⁵⁾³⁶⁾、および特に尿路疾患では false positive の頻度が高いこと（文献的には 2 ~ 6 %³⁷⁾, 4.3%³⁸⁾, 5.7%³⁹⁾, 8.2%⁴⁰⁾）などがあげられている。

これらの欠点を剝離細胞の染色体検査で補うことが出来ないが、すなわち数的にも形態的にも正常細胞とは異なる染色体を認める場合には細胞診の補正補助として役立つ⁴¹⁾のではなかろうかということが当然考えられる。

ただ染色体異常を有する細胞がどの位の頻度で認められれば腫瘍と診断するかという具体的な報告は、尿路腫瘍の場合にはみあたらない。

Dewald ら⁴²⁾は胸水中の腫瘍細胞の染色体を直接法を用いて検索して通常の細胞診との比較を行なつている。彼らの診断基準は少なくとも 30 個の分裂中期細胞を観察して、その中に 2 倍体より数の多い異数性の染色体をもつ細胞、あるいは marker 染色体をもつ細胞が少なくとも 3 個以上認められた場合には腫瘍性の胸水であるとしている。

彼らのによると正診断率は染色体分析で 71%、通常の細胞診で 68%、両者を組み合わせると 83% となり、染色体分析を用いた診断法が通常の細胞診の補助として役立つことを強調している。

また Hansson ら⁴³⁾もやはり直接法で胸水の染色体分析を行ない、通常の細胞診陰性で染色体分析により腫瘍と診断出来た 1 例を記載し、この方法の利点として材料採取から標本が出来るまで比較的短時間（約 3 時間）で、かつ false positive の全くないことをあげて

いる。

腫瘍性胸水は以前から染色体分析の長い材料として用いられており、単に数的異常のみならず分染法による分析も行なわれていわゆる偽2倍体などの異常も発見されており、これを直ちに尿路腫瘍の場合にあてはめることは出来ない。

我々の検討では尿中の剥離細胞のなかに含まれている分裂細胞数は一般に不充分のことが多く、染色体分析可能な分裂中期細胞1例につき平均10個(low-stageの膀胱乳頭状腫瘍では平均8個)であり、Dewaldら⁴²⁾の診断基準である30個以上の分裂細胞を観察出来たのは2例(5%)のみであった。

なおDewaldら⁴²⁾は2倍体より染色体数の少ないものを癌の診断基準から除外しているが、腫瘍で染色体数が減る場合があることも知られており、膀胱腫瘍についても悪性度が高いにもかかわらず低2倍体の染色体数をもつ細胞が認められたという報告がある²⁴⁾³⁴⁾。

いずれにしても今後さらに症例を増やして尿路腫瘍の場合の診断基準を作らなくてはならないわけである。今の所、2倍体の細胞が剥離細胞中に認められた場合、それが偽2倍体であるか否かは区別出来ないが、分頻頻度(M.I.)を調べてそれが高ければ腫瘍である可能性が高い。特に従来low-gradeの膀胱腫瘍の細胞診はfalse positiveが多いとされており^{44)~48)}、この点染色体検査が将来役立つ可能性が高いと思う。4倍体以上の異数性の細胞が認められた場合や、marker染色体を認める場合には生物学的悪性度が高い腫瘍である可能性が高く、この意味ではある程度の“grade”の判定も可能であると思う。

high-stage例では、明らかに異常な染色体が認められる頻度が高いことや、さらに我々の症例〔No. 37〕の様に回腸導管尿で通常の細胞診は陰性で剥離細胞に明らかに異常な染色体を認めた経験などは注目してよからう。

染色体分析は比較的短時間に簡単に出来るのでscreening testとして用いることも可能である。我々の方法では材料の採取から標本作製、そして写真撮影まで行なつても半日あれば充分であり、その判定もなれば比較的容易である。ただし今の所false negative(剥離細胞中に全く染色体分析可能な分裂中期細胞が認められない場合)もかなりある。この場合はM.I.の算定と共に、核DNA量の測定²³⁾、剥離した間期細胞のSex-chromatinの観察⁴⁹⁾、剥離細胞のABH同様抗原検索⁵⁰⁾等の方法も今後の検討課題となろう。染

色体検査と併行して通常の尿細胞診が必要なことは言うまでもない。

結 語

1. 40例の尿路腫瘍について剥離細胞を用いたMitotic indexの算定と染色体分析を行った。

2. 尿路腫瘍以外の対照疾患ではM.I.は平均 0.07 ± 0.10 の低値で、かつ剥離細胞中に染色体分析可能な分裂中期細胞は認められなかった。なお尿路感染のあるものとなないもののM.I.はそれぞれ、 0.10 ± 0.06 、 0.04 ± 0.03 であつたが、推計学的に有意差ではなかった。

3. 表在性膀胱乳頭状腫瘍のM.I.は平均 2.40 ± 0.46 で、対照に比べて有意に高く、grade 0のもの(M.I. 1.07 ± 0.16)とgrade I以上(M.I. 2.30 ± 0.50)を比べると、後者の方が有意に高く、さらにhigh-grade、high-stageの浸潤癌では、平均 6.16 ± 1.29 のM.I.であつた。すなわち剥離細胞のM.I.がある程度、腫瘍の分裂状態を反映している結果が得られた。

4. 分裂中期細胞は尿路腫瘍40例中25例(62.5%)に認められた(膀胱腫瘍36例中24例、腎盂尿管腫瘍4例中1例)。

a) 表在性乳頭状腫瘍では20例中14例(70%)に平均7.6個の分裂中期細胞を認めた。grade 0の7例では5例が2倍体附近の細胞のみを認め、2例で3倍体又は4倍体以上の細胞を認めた。grade I以上の7例では2倍体附近の細胞のみを認めたのは1例で、残りの6例はすべて4倍体附近かそれ以上の細胞を認め、うち1例はmarker染色体をも認めた。

b) high-grade、high-stageの膀胱浸潤癌では16例中10例(62.5%)に平均14個の分裂中期細胞を認めた。2倍体附近の細胞のみを認めたのは1例で、高3倍体が1例、4倍体附近かそれ以上の細胞を認めたものが8例のうち4例にmarker染色体をも認めた。

腎盂尿管腫瘍で分裂中期細胞を認めたのは4例中1例(25%)で、この1例は回腸導管尿の細胞診は陰性であつたが、剥離細胞に異常染色体を3個認めたことにより確定診断がついた。

5. 材料の採取方法として、pumping施行液の方が自排尿やカテーテル尿よりも効率的に分裂中期細胞を得られた。ただしhigh-stageの膀胱腫瘍では自排尿で自然剥離した細胞中にも分裂中期細胞を認める率が高く、中には自排尿のみで充分染色体分析可能なものもあつた。

6. 表在性膀胱乳頭状腫瘍では通常の尿細胞診が陰

性でしかも剥離細胞中に分裂中期細胞が認められるものがかなりあつた。ただし細胞診の補正補助診断とするには今後さらに症例を増やして診断基準を決める必要がある。

稿を終るにあたり、御指導、御校閲を賜つた恩師辻一郎教授に深甚の謝意を表します。

また御指導、御協力を載いた北海道大学理学部染色体研究施設、佐々木本道教授、ならびに阿部周一博士に深謝いたします。

本論文の要旨は第69回日本泌尿器科学会総会および第5回北海道癌談話会で発表した。

文 献

- Greene, L.F., Hanash, K.L. and Farrow, G.M.: Benign papilloma or papillary carcinoma of the bladder. *J. Urol.*, **110**, 205—207, 1973.
- Lamb, D.: Correlation of chromosome counts with histopathological appearance and prognosis in transitional-cell carcinoma of bladder. *Brit. Med. J.*, **1**, 273—277, 1967.
- 長山忠雄: 剥離細胞による膀胱腫瘍染色体検索法. *医学のあゆみ*, **75**, 488—489, 1970.
- 長山忠雄, 片海七郎: Pumping 法による膀胱腫瘍の細胞診および腫瘍細胞染色体の検索. *泌尿紀要*, **18**, 5—11, 1972.
- 関根昭一: 尿路ならびに男子性器腫瘍の染色体観察. *日泌尿会誌*, **67**, 452—464—1976.
- Nowell, p.c. and Hungerford, D.A.: Chromosome studies on normal and leukemic human leukocytes. *J. Nat. Cancer Inst.*, **25**, 85—109, 1960.
- Rowley, J.D.: A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining. *Nature*, **243**, 290—293, 1973.
- Zankl, H. and Zang, K.D.: Cytological and cytogenetical studies on brain tumors. IV. Identification of missing G chromosome in human meningioma as No. 22 by fluorescence technique. *Humangenetik*, **14**, 167—169, 1972.
- 佐々木本道: 染色体異常と癌発生. *医学のあゆみ*, **96**, 312—315, 1976.
- 長山忠雄, 片海七郎: いわゆる Silent Bladder Cancer について. *日泌尿会誌*, **63**, 427—437, 1972.
- Pringle, J.A.S. and Williams, R.E.: Mitoses in human bladder biopsies. Annual Report, British Empire Cancer Campaign, **2**, 237, 1967.
- Hainau, B. and Dombernowsky, P.: Histology and cell proliferation in human bladder tumors. *Cancer*, **33**, 115—126, 1974.
- Clayson, D.B., Pringle, J.A.S., Bonsen, G.M. and Wood, M.: The technique of bladder implantation further results and an assesment. *Vrit. J. Cancer*, **22**, 825—832, 1968.
- Levi, P.E., Cowan, D.L. and Cooper, E.H.: The induction of cell proliferation in the mouse bladder by 4-ethylsulphonyl-naphtalene -1-sulphomide. *Cell Tiss. Kinet.*, **2**, 249—262, 1969.
- Sharief, Y., Reich, III, C.F. and Vonar, R.A.: Polyploidy in mammalian urothelial cells. *Urol. Res.*, **8**, 153—161, 1980.
- Fulken, M.J., Cooper, E.H. and Tanaka, T.: Proliferation an ultrastructure of papillary transitional cell carinoma of the human bladder. *Cancer*, **27**, 71—82, 1970.
- Veenema, R.J., Fingerhut, B. and Graff, S.: Nucleic acid synthesis in bladder tumors. *Trans. Am. Assoc. Genitorium. Surg.*, **62**, 155—159, 1970.
- Leuchyenberger, C., Leuchtenberger, R. and Darris, A.M.: A microspectrophotometric study of the Deoxyribose Nucleic Acid (DNA) content in cells of normal and malignant human tissues. *Amer. J Path.*, **30**, 65—85, 1954.
- Levi, P.E., Cooper, E.H., Anderson, C.K. and Williams, R.E.: Analysis of DNA content, Nuclear size and cell proliferation of transitional cell carcinoma in man. *Cancer*, **23**, 1074—1085, 1969.
- Fossa, S.D.: Feulgen-DNA-values in transitional cell carcinoma of th human bladder. *Beitr. Path. Bd.*, **155**, 44—55, 1975.
- Tribukait, B. and Esposti, P.L.: Quantatative flow-microfluorometric analysis of the DNA in cells from neoplasms of th urinary bladder: Correration of aneuploidy with histological grading and th cytological findings. *Urol. Res.*, **6**, 201—205, 1978.
- Jakobson, A., Bickel, P. and Sell, A.: Flow-cytometric investigations of human blader carcinoma compared to histlogical classification. *Urol. Res.*, **7**, 109—112, 1979.
- 星 宣次, 折 精一: 核 DNA 含量測定 of 膀胱癌及び尿細胞診への応用. *日泌尿会誌*, **71**, 458—467, 1980.
- Sandberg, A.A.: Chromosome markers and progression in bladder cancer. *Cancer Res.*, **37**, 2950—2956, 1977.
- 布勢裕軸, 藤枝順一郎, 大室 博, 勝目三千人: 膀胱移行上皮癌の組織的電顕的研究 I. 腫瘍細胞の構造と分化度. *日泌尿会誌*, **64**, 808—828, 1973.
- 佐々木紘一: 膀胱癌の染色体に関する研究—特に予後とその関係について—. *日泌尿会誌*, **67**,

- 968—986, 1976.
- 27) 重松 俊：膀胱腫瘍に於ける染色体数の意義。日泌尿会誌, 55, 734—737, 1964.
 - 28) 嶺井定一：膀胱腫瘍に於ける染色体の研究。泌尿紀要, 11, 1085—1113, 1965.
 - 29) 長山忠雄：染色体よりみた化学療法。日泌尿会誌, 63, 737—738, 1972.
 - 30) Falor, W.H. and Ward, R.M.: DNA banding patterns in carcinoma of the bladder. J.A.M.A., 226, 1322—1327, 1973.
 - 31) Falor, W.H. and Ward, R.M.: Cytogenetic analysis: A potential index for recurrence of early carcinoma of the bladder. J. Urol., 115, 49—52, 1976.
 - 32) Falor, W.H. and Ward, R.M.: Prognosis in early carcinoma of the bladder based on chromosomal analysis. J. Urol., 119, 44—48, 1978.
 - 33) Summers, J.L., Falor, W.H. and Ward, R.M.: A 10-year analysis of chromosomes in non-invasive papillary carcinoma of the bladder. J. Urol., 125, 177—178, 1981.
 - 34) Spooner, M.E. and Cooper, E.H.: Chromosome constitution of transitional cell carcinoma of the urinary bladder. Cancer, 29, 1401—1412, 1972.
 - 35) Esposti, P.L. and Zajicek, J.: Grading of transitional cell neoplasms of the urinary bladder smears of bladder washings. Acta Cytologica, 16, 529—537, 1972.
 - 36) Rübber, H., Bubenzen, J., Bökenkamp, K., Lutzeyer, W. and Rathert, P.: Grading of transitional cell tumors of urinary tract by urinary cytology. Urol. Res., 7, 73—91, 1979.
 - 37) Heney, N.M., Szyfelbein, W.M., Daly, J.J., Prout, G.R. and Bredin, H.C.: Positive urinary cytology in patients without evident tumor. J. Urol., 117, 223—224, 1977.
 - 38) 態登宏光, 根本良介, 加藤哲郎：尿細胞診の臨床的意義。臨泌, 35, 469—473, 1981.
 - 39) 坪井成美, 秋元成太, 矢崎恒忠, 由井康雄, 中島均, 戸塚一彦, 川井 博：尿細胞診の臨床統計。臨泌, 33, 469—474, 1979.
 - 40) 林田重昭, 桐山奮夫, 山本憲男, 平山 嗣：尿剝離細胞診の臨床的価値。癌の臨床, 19, 482—487, 1973.
 - 41) 牧野佐二郎：染色体—人類の細胞遺伝—。第1版, p. 129) 医学書院, 東京, 1979.
 - 42) Dewald, G., Dines, D.E., Weiland, L.H. and Gordon, H.: Usefulness of chromosome examination in the diagnosis of malignant pleural effusions. N. Engl. J. Med., 295, 1494—1500, 1976.
 - 43) Hansson, A. and Korsgaard, R.: Cytogenetical malignant pleural effusions. Scand. J. Resp. Dis., 55, 301—308, 1974.
 - 44) Umiker, W., Lapides, J. and Sourenne, R.: Exfoliative cytology of papillomas and intra-epithelial carcinoma of the urinary bladder. Acta Cytologica, 6, 255—266, 1962.
 - 45) Johnson, W.D.: Cytopathological correlations in tumors of the urinary bladder. Cancer, 17, 867—880, 1964.
 - 46) Umikler, W.: Accuracy of cytologic diagnosis of cancer of the urinary tract. Acta Cytologica, 8, 186—193, 1964.
 - 47) Esposti, P.L., Edsmyr, F. and Tribukait, B.: The role of exfoliative cytology in the management of bladder carcinoma. Urol. Res., 6, 197—202, 1978.
 - 48) El-bolkainy, M.N.: Cytology of bladder carcinoma. J. Urol., 124, 20—22, 1980.
 - 49) Atkin, N.B. and Petkovic, I.: Variable sex chromatin pattern in an early carcinoma of the bladder. J. Clin. Path., 26, 126—179, 1973.
 - 50) Sadougjhi, N., Rubenstone, A., Mlsna, J. and Davidsohn, I.: The cell surface antigens of bladder washing specimens in patients with bladder tumors, a new approach. J. Urol., 123, 19—21, 1980.

(1982年5月17日受付)