Contact-Micro-Cystoscopy の研究

第1報: Contact-Micro-Colpohysteroscope による膀胱上皮細胞の観察

中	尾	昌	宏
三	品	輝	男
小	林	徳	朗
前	川	幹	雄
中	川	修	一
豊	田	和	明
渡	辺		決

京都府立医科大学泌尿器科学教室
(主任: 渡辺 決教授)

STUDIES ON CONTACT-MICRO-CYSTOSCOPY

I. Observation of the Bladder Epithelium with Contact-Micro-Colpohysteroscope

Masahiro Nakao, Teruo Mishina, Tokuro Kobayashi, Mikio Maegawa,
Shuichi Nakagawa, Kazuaki Toyoda and Hiroki Watanabe
Department of Urology, Kyoto Prefectural University of Medicine
(Director: Prof. H. Watanabe)

It is important to perform histopathological examination of the endoscopically normal bladder epithelium of patients with bladder tumor, because carcinoma in situ or precancerous lesions may be sometimes found there. For that purpose, we began to develop a new technique of contact-micro-cystoscopy to observe bladder epithelium with high magnification.

As a basic study, we stained the bladder of dogs with methylen blue, toluidine blue, thionine or cresyl violet acetate, and observed with Storz Contact-Micro-Colpohysteroscope 26156B. It is presumed from this trial that cresyl violet acetate may be the best to stain the bladder epithelium. We also stained the epithelium of the bladder with tumor after total cystectomy with cresyl violet acetate, and observed with this instrument. We could find neoplastic changes in bladder epithelium with the naked eyes.

It is thought that contact-micro-cystoscopy may be used clinically after further improvement of this instrument.

要旨: 生体の膀胱上皮細胞の細胞レベルでの観察が可能な contact-micro-cystoscopy の開発に関する基礎的研究として、各種生体染色用色素の膀胱上皮細胞に対する染色性について検討を行った。

生体染色用色素としてメチレンブルー、トルイジンブルー、チオニンおよびクレシールバイオレットアセテートを用い、膀胱上皮細胞の観察には Storz 社製 Contact-Micro-Colpohysteroscope 26156B を使用した。

イヌの膀胱を摘出し、上記色素で上皮細胞に染色を施して観察を行ったところ、クレシールバイオレットアセテートの染色性が最も良好であった。また膀胱腫瘍患者の膀胱全摘除術後の膀胱を、クレシールバイオレットアセテートを用いて染色を施し観察すると、ある程度の病理組織学的診断が可能であった。

本法は装置の改良により、生体への応用も可能であると考えられる。

緒 言

膀胱腫瘍は再発率が高く、また多発することを特徴

とする腫瘍である。内視鏡的には正常と思われる膀胱腫瘍患者の膀胱粘膜に対し multiple biopsy を行い、

病理組織学的検索を加えると、前癌病変や上皮内癌が発見され、これらと腫瘍の高い再発率や多発性との関係が論じられている¹⁾。この膀胱腫瘍の示す多中心性発育形態を考えると、肉眼的には腫瘍性病変が存在しないと思われる部位に対しても病理組織学的検索を加えることは意義があると思われるが、広い範囲にわたる生体の膀胱粘膜の組織学的変化を観察することは、これまでの方法では不可能であつた。

私たちは膀胱粘膜上皮に生体染色を行い、通常の膀胱鏡と同様の操作で特殊な内視鏡の先端を膀胱粘膜面に接着させることにより、生体の膀胱上皮を細胞レベルで直接観察することのできる検査法を contact-micro-cystoscopy と命名し、その開発に着手した。Micro-endoscope を用いて生体の粘膜上皮を細胞レベルで観察する検査法は、産婦人科領域ではすでに施行されており、その装置も開発されている²⁾。私たちは contact-micro-cystoscopy の開発に関する基礎的研究として、摘出したイヌおよびヒトの膀胱上皮をメチレンブルー、トルイジンブルー、チオニンおよびクレシールバイオレットアセテートの4種類の色素で染色して、Storz 社製 Contact-Micro-Colpohysteroscope 26156B を用いて観察し、若干の知見を得たので報告する。

方 法

Fig. 1に膀胱上皮の観察に用いた Storz 社製 Contact-Micro-Colpohysteroscope 26156B を示す。この内視鏡は2つの接眼レンズを有し、対象物の表面に接着させることにより各々60倍および150倍の倍率を得ることができる。各々の接眼レンズはスイッチによって選択することができ、またスイッチの前方のスクリーンによって焦点を合わせることができる。

この内視鏡にクイックアダプターおよびズームレンズを接続させた1眼レフカメラ・オリンパス OM-1をとりつけ、観察所見を撮影した。フィルムにはコダック・エタクローム400を使用した。高倍率であるため

に十分な光量が必要とし、光源には Storz 社製クセノン光源装置 UR-487C を用いた。

メチレンブルー、トルイジンブルー、チオニンの1%水溶液およびクレシールバイオレットアセテートの0.5%水溶液を作製し、イヌの膀胱を摘出してこれらの水溶液を塗布し、2分間放置した後洗浄して観察した。またこの4種類の色素のうち最も膀胱上皮細胞の染色性が良好であると思われたクレシールバイオレットアセテートを用いて、膀胱全摘除術後の膀胱腫瘍患者の膀胱を染色して観察した。

結 果

摘出したイヌの膀胱を1%メチレンブルー水溶液で染色して観察した所見を Fig. 2に示す。メチレンブルーに染色された表層の被蓋細胞が観察された。やや染色性が不良と考えられ、色素を追加すると Fig. 3に示すように細胞質が著しく濃染され、核の微細な観察が不可能となった。トルイジンブルーも、膀胱上皮に対してメチレンブルーとほぼ同様の染色性を示した。

Fig. 2 The bladder of a dog stained with methylen blue ($\times 120$)

Fig. 3 The bladder of a dog stained with methylen blue ($\times 80$)

Fig. 1 Contact-Micro-Colpohysteroscope 26156B

すなわちメチレンブルーやトルイジンブルーは細胞質が濃染されるため、核の観察に対する適切な染色性を得ることが比較的難しく、本検査法には不適當と考えられた。

Fig. 4はイヌの膀胱を1%チオニン水溶液で染色して観察した所見である。メチレンブルーに比し核は鮮明に染色され、細胞質は淡染されており、本検査法には適当な色素と思われた。

Fig. 5はイヌの膀胱を0.5%クレシールバイオレットアセテート水溶液で染色して観察した所見である。細胞質はほとんど染色されず、核が他の色素に比し最も鮮明に染色されており、本検査法には最も好ましい色素であると思われた。

Fig. 6およびFig. 7は、膀胱鏡にて明確な腫瘍性病変が認められず、multiple biopsyにて癌組織が発見された症例の膀胱全摘除術後の膀胱を、クレシールバイオレットアセテートで染色して観察した所見である。

Fig. 4 The bladder of a dog stained with thionine ($\times 120$)

Fig. 5 The bladder of a dog stained with cresyl violet acetate ($\times 150$)

Fig. 6 Normal bladder epithelium ($\times 120$)

Fig. 7 Transitional cell carcinoma ($\times 120$)

Fig. 6では、染色性の低い大きさの均一な小型の核が、比較的疎に配列しているのが認められる。この部位に対し病理組織学的検索を行うと、粘膜のびらんを認めるだけで、腫瘍性病変は存在しなかった。Fig. 7では、色素に濃染された大小不ぞろいの大きさの核が密に配列しているのが認められる。また粘膜下層の血管が明瞭に観察される。この部位は、病理組織学的検索によ

Fig. 8 Transitional cell carcinoma ($\times 120$)

り、わずかに粘膜下層に浸潤した Grade 3 の移行上皮癌が認められた。Fig. 8 は膀胱鏡にて非乳頭状広基性の腫瘍を認め、膀胱全摘術を施行した症例の腫瘍の表面を、クレシールバイオレットアセテートで染色して観察した所見である。色素に濃染された大小さまざまな大きさの核が密に配列しているが、血管は認められない。この腫瘍は病理組織学的検索では、Stage pT2, Grade 3 の移行上皮癌であった。

このように本検査法は、生体に应用することにより、通常の膀胱鏡検査では発見されない腫瘍性病変が発見可能であり、また粘膜下層の血管を観察することにより、ある程度の浸潤度判定もできるのではないかとと思われる。

考 察

膀胱腫瘍の治療は、従来は膀胱鏡にて確認できる可視的腫瘍のみを対象に行われてきたが、最近上皮内癌や前癌病変などに対しても考慮が払われるようになった。全摘出した膀胱腫瘍患者の膀胱に対し全割標本を作製し病理組織学的検索を行うと、腫瘍以外の部位にも上皮内癌や異形上皮が広く分布していることが判明している³⁾。これらの病変は手術方法の決定や術後の経過観察に際し重要な指標となるが、いわゆる flat lesion であるため、通常の膀胱鏡検査では認識されず、その発見のためには multiple mucosal biopsy や色素膀胱鏡検査法などが行われてきた。

Wallace ら¹⁾は膀胱腫瘍患者の膀胱粘膜に対し multiple mucosal biopsy を行い、肉眼的に正常な部位の 33% に病理組織学的異常を認め、4.5% は癌組織であったと報告している。さらに粘膜に発赤を認めれば、その 14% は癌組織であり、また mossy appearance を呈する部位では、その 42% は癌組織であると報告し、このような肉眼的に異常な粘膜に対して病理組織学的検索を行うことの重要性を強調している。しかしこの方法では、膀胱粘膜のごく一部を検索したにすぎず、広範囲にわたる病変部位を観察することはできない。

色素膀胱鏡検査法に関しては、メチレンブルーを用いた報告がある。福井ら⁴⁾は膀胱腫瘍症例に対しメチレンブルーによる生体染色を行い、通常の膀胱鏡検査では診断困難な上皮内癌や微小浸潤癌に対する染色性が良好で、これら早期癌病変が存在する部位を知る上で本法は極めて有用であったと報告している。また井川ら⁵⁾もメチレンブルー染色を施した膀胱粘膜の multiple biopsy を行い、その病理組織学的所見とメチレンブルーに対する染色率とを比較すると、移行上皮

癌、上皮内癌、上皮異形成、炎症および正常組織では染色率はそれぞれ 65.7%, 66.7%, 31.6%, 21.8%, 21.0% であったと報告している。このように色素膀胱鏡検査法は、膀胱粘膜の病理組織学的異常を発見するのに有用な方法であるが、生体染色を行った上皮を micro-endoscope を用いて直接観察すれば、さらにその正確さは向上するものと思われる。

Micro-endoscope を用いて生体の粘膜上皮を細胞レベルで観察する検査法は、産婦人科領域ではすでに開発されている。大川ら²⁾は子宮癌や卵巣癌の診断における micro-endoscope の有用性について報告し、その際に用いる色素として細胞核を鮮明に染色することのできるクレシールバイオレットアセテートが最も望ましいと述べている。私たちも膀胱上皮の染色性において同様の結果を得たが、本色素では赤紫色に染色されるため、黄赤色を呈する膀胱粘膜とのコントラストがつけがたいという欠点がある。この点では青色色素であるメチレンブルーやトルイジンブルーが有利であるが、前にも述べたようにこれらの色素は細胞核の染色性がやや不良であり、また濃染された細胞質のために核の詳細な観察が困難となってくる。チオニンは核の染色性はクレシールバイオレットアセテートに比しやや劣るものの、細胞質は濃染されず、本検査法には比較的望ましい色素であると思われる。

Micro-endoscope は泌尿器科領域においてほとんど用いられていなかったが、最近 Gill ら⁶⁾が私たちと同様の内視鏡を用いて膀胱腫瘍を観察し、報告している。Gill ら⁶⁾は生体染色用色素としてメチレンブルーを用いており、メチレンブルーを溶解させる食塩水の濃度を変化させることにより、腫瘍と他の異常上皮を区別することが可能であると述べている。

本検査法は、膀胱腫瘍患者に施行すれば多くの有益な情報を得ることができるとと思われるが、生体に应用するには、専用装置の開発のほか、用いるべき色素の種類や濃度、溶解液や粘膜との接触時間などに対する十分な検討が必要であろう。

結 語

生体の膀胱粘膜が細胞レベルで観察可能な検査法である contact-micro-cystoscopy の開発に関する基礎的研究として、イヌおよびヒトの膀胱上皮をメチレンブルー、トルイジンブルー、チオニンおよびクレシールバイオレットアセテートの 4 種類の色素で染色し、Storz 社製 Contact-Micro-Colposcope 26156 B を用いて観察したので報告した。

本法は膀胱粘膜の病理組織学的診断が *in situ* である程度可能であり、専用装置の開発や色素に対する検討により、生体応用も可能であると考えられた。

稿を終えるにあたり、御校閲を賜った渡辺決教授に深謝いたします。本論文の要旨は第21回日本癌治療学会総会にて発表した。

文 献

- 1) Wallace, D.M.A., Hindmarsch, J.R., Webb, J.N., Busuttil, A., Hargreave, T.B., Newsam, J.E. and Chisholm, G.D.: The role of multiple mucosal biopsies in the management of patients with bladder cancer. *Brit. J. Urol.*, **51**, 535—540, 1979.
- 2) 大川公康, 佐々木茂, 大川了汎: Miniature Pan-endo-microscope とその臨床応用. *臨婦産*, **33**, 281—289, 1979.
- 3) Koss, L.G., Tiamson, E.M. and Robbins, M.A.:

Mapping cancerous and precancerous bladder changes. *J.A.M.A.*, **227**, 281—286, 1974.

- 4) 福井 巖, 大和田文雄, 牛山武久, 和久井守, 当真嗣裕, 三谷玄悟, 横川正之, 山田 喬: 膀胱腫瘍に対するメチレンブルー生体染色検査. 一特に早期癌局在診断の有用性について. *臨泌*, **31**, 607—614, 1977.
- 5) 井川幹夫, 池本秀昭, 中村浩二, 西本憲二, 小林勲勇, 大西喜夫, 中津 博, 仁平寛己: 膀胱癌に対する膀胱粘膜多部位生検とメチレンブルー染色について. *西日泌尿*, **45**, 803—808, 1983.
- 6) Gill, W.V., Huffman, J.L., Lyon, E.S. and Bagley, D.H.: In vivo urothelial surface histology by microscopic chromocystoscopy. *J. Urol.*, **130**, 669—671, 1983.

(1984年7月31日受付)