Microscopic Chromocystoscopy による膀胱腫瘍の 診断に関する臨床的研究

佐賀医科大学外科学講座泌尿器科部門 (主任: 真崎善二郎教授)

井 口 厚 司

CLINICAL DIAGNOSIS OF BLADDER CANCER BY MICROSCOPIC CHROMOCYSTOSCOPY

Atsushi Iguchi

Division of Urology, Department of Surgery, Saga Medical School, Saga, 840-01, Japan

The present investigations were performed to know whether microscopic chromocystoscopy (MCC) could predict the histology of bladder urothelium. The study included 57 patients with bladder tumors. Staining of urothelial surface cells was accomplished with intravesical instillations of 0.1 per cent methylene blue solution. MCC observations were undertaken using a contact-microcolpohysteroscope with 1~150 magnifications. The microscopic findings of the stained areas were classified into 5 groups (group X, 0, 1, 2 and 3), depending on configuration, size and distribution of the cell nuclei: Group X; the nucleus could not be recognized because of amorphous diffuse staining, group 0; almost normal nuclear features, group 1; relatively minimal abnormalities, group 3; a large number of abnormal features, group 2; intermediate changes of group 1 and 3.

In tumorous carcinomas which could be detected by conventional cystoscopy, 78 of 92 tumors were stained; the staining rates were higher in grade 2 and 3 carcinomas compared to grade 1 tumors.

Comparison of MCC with histological grading in 233 areas of flat epithelium were as follows. Of 125 areas which were stained, 53 were estimated to be in groups 1~3. Histologically, forty-seven of these 53 were diagnosed as either carcinomas (41) or dysplasia (6).

Out of 66 in group 0, only 6 areas were carcinoma in situ or dysplasia. In 108 areas where no staining was seen, 9 carcinomas and 8 dysplasia were found. These data show that the observations with MCC are roughly parallel with the histological examinations.

The results indicate that MCC examination is useful not only in estimating the grade of visible tumors, but also in detecting the abnormal vesical epithelia which can not be recognized by a conventional cystoscopic examination.

要旨: 延べ57名の膀胱腫瘍患者に対し, 0.1%メチレン青の膀胱内注入による microscopic chromocystoscopy (MCC) を行った。

染色された部位は microscopic cystoscope (1~150倍率) で観察される細胞像を核の形態, 大きさ, 配列, および染色の濃淡などから 5 群 (group X, 0, 1, 2, 3) に分けて判定した。group X は無構造に染色されたため核の判別不能, group 0 は異型のないほとんど正常な核をもつもの, group 1 から 3 は軽度から順に強く核異型の見られるものとした。

隆起性腫瘍では92腫瘍のうち78腫瘍が染色され, 染色率は grade 2 および 3 の腫瘍が grade 1 の腫瘍に比べて高かった。MCC の判定と組織学的異型度との比較では, grade が高いものほど group と grade はよく一致した。

平坦な粘膜に関しては125カ所が染色され, このうち53カ所が group 1, 2, 3 と判定された。この53カ所のうち47カ所 (88.7%) が上皮内癌 (41カ所), あるいは dysplasia (6カ所) であった。一方, group 0 とした66カ所では 6カ所 (9.1%) にのみ上皮内病変が検出された。非染色部位からも108カ所生検を行

ない、17カ所 (15.7%) に上皮内病変が見付かった。

この結果から MCC は隆起性腫瘍の異型度推定に有用であるばかりでなく、通常の膀胱鏡検査では見付けることの難しい上皮内病変の検出において非常に有用であり、通常の chromocystoscopy において最大の欠点である false positive を少なくし、より正確な診断が可能であることがわかった。

緒 言

表在性膀胱腫瘍を経尿道的に治療した場合、高頻度に再発がみられることはよく知られている¹⁾²⁾。その原因の一つとして膀胱腫瘍の多中心的発生が考えられており、腫瘍とは離れた一見正常と思われる粘膜に、手術時すでに dysplasia などの前癌病変や carcinoma in situ (CIS) が存在し、これらが腫瘍の再発と密接に関係するといわれている³⁾⁴⁾。しかし、このような異常上皮は通常の内視鏡では正常上皮と見分けがつきにくく、診断には膀胱粘膜の multiple random biopsy⁵⁾あるいは selected site biopsy⁶⁾が用いられている。

膀胱の生体染色は腫瘍に選択的に取り込まれる色素を用いて invisible tumor を染色し、in vivo で正常粘膜と鑑別しようとする目的で試みられてきたが⁷⁾⁸⁾、腫瘍以外の炎症あるいは正常粘膜も一部染色されるため特異性を欠く点から、膀胱腫瘍の診断としていまだ臨床的に普及するには至っていない。今回、我々は膀胱腫瘍患者に対しメチレン青による生体染色に microscopic cystoscopy を併用 (microscopic chromocystoscopy: 以下 MCC と略す) し検討したので報告する。

研究対象および方法

1984年6月から1986年5月までの2年間に佐賀医科大学附属病院泌尿器科に入院した膀胱腫瘍またはその疑いの患者50名を対象とした。患者は男性35名、女性15名で、年齢は48歳から82歳 (平均66歳) であった。患者は腫瘍再発による再入院を含めて延べ57回入院し、経尿道的腫瘍生検が行われた。入院の際の診断時点で初発38名、再発19名であり、再発患者では先行治療として17名に経尿道的手術がなされ、2名は膀胱部分切除が行われていた。そのうち5名は Mitomycin C, Peplomycin, Cytarabine の三者併用、また3名は Doxorubicin 単独の予防的膀胱内注入療法がなされていた。

通常の膀胱鏡検査を行った後、経尿道的手術または生検時に生体染色による検査を施行した。染色には生理的食塩水で溶解した0.1%メチレン青を用いた。最初の20名は20cmH₂Oの落差で400mlを越えない量の0.1%メチレン青を膀胱内に点滴注入し5分間接触さ

せ、残りの37名は50mlのメチレン青を one shot に注入し60分前後接触させた。観察は90~100mlの生理食塩水で3回洗浄した後に行い、観察時の灌流液にも生理食塩水を用いた。

MCC にはドイツ、カールストルツ社製 Contact-Micro-Colpohysteroscope 26156B (図1) を用いた。これは婦人科領域において子宮頸部などの異常上皮の観察などに使用するために開発されたもので、尿路性器表面を種々の距離をおいて、または接触観察により、マクロレベル (広角全視1倍) から最高150倍 (接触) の細胞レベルまでの顕微鏡に匹敵する高倍率観察が可能な多目的内視鏡である。接眼レンズの近くの切替スイッチにより、弱拡大60倍と強拡大150倍の倍率に簡単に切り替えることができる。光源は高倍率の場合でも十分な光量が得られるようにストルツ社製キセノン光源を用いた。また内視鏡写真撮影にはオリンパス OM-2を用いた。

観察後、できるだけ速やかに染色部、次いで非染色部の順に生検を行った。染色部位をより確実に生検するためには附属の生検用鉗子を用いて microscope 直視下に生検するのがよいと思われた。しかし、この鉗子では組織の採取量が少ないため今回の研究では用いず、MCC 観察結果を記載ないし記憶しておいて、観察直後に通常の cold punch または電気切除によって組織を採取した。生検部位は次のように定めた。まず隆起性腫瘍からは単発、多発にかかわらず同一腫瘍から1カ所行った。次に平坦な粘膜からの生検は、メチレン青で染色された部位はすべて採取したが、非染色部であっても発赤やベルベット状変化がみられる粘膜、

図1 Contact-Micro-Colpohysteroscope

図2 MCCによる膀胱内所見(60×)

図5 group 1; papillary tumor, grade 1>2 (150×)

図3 group X; 結石, 白苔が付着した papillary tumor, grade 1 (60×)

図6 group 2; carcinoma in situ, grade 2 (150×)

図4 group 0; normal urothelium (150×)

図7 group 3; carcinoma in situ, grade 3 (150×)

腫瘍好発部位とされる後壁および尿管口外側、および主腫瘍に近接した周辺部粘膜からも組織を採取した。

生検部位の内視鏡的所見については、隆起性腫瘍は乳頭状・有茎、非乳頭状・有茎、乳頭状・広基性、非乳頭状・広基性の4型に分けた。また平坦な粘膜については、内視鏡的に全く正常と思われる粘膜と、発赤あるいはベルベット状変化など微細な変化がみられる粘膜の2型に分類した。

メチレン青による腫瘍の染色度は次のような基準に基づいて4段階に分けた。

染色度 A：濃密に染色された

染色度 B：中等度の濃度、または部分的に染色された

染色度 C：淡く染色された

染色度 D：全く染まらなかった

これらのうち A と B は内視鏡的に他の部位と明らかに識別可能である。また C は MCC で表層の上皮細胞の核を観察することが可能な程度に染色されたものである。この場合は TUR の灌流液によって時間とともに色素が溶け出すことがあるため検査直後の早い時間に生検する必要がある。

メチレン青による生体染色では主に核が濃染し細胞質は淡く染色されるため、MCC により観察した場合、弱拡大 (60×) では上皮細胞の核の配列、形態がわかり (図 2)、さらに強拡大 (150×) では一層詳細に核の形態の観察が可能である。そこで染色された各部位について上皮細胞の核の形態、大きさ、配列、濃淡などから以下の基準によって 5 つの group に分けて生検前に判定した。

group X：無構造に濃染したため核の判別不能 (図 3)。

group 0：円形で小型の核、または小型で紡錘形の細胞がほぼ均一の大きさでみられる場合。時に大型の核が混じることもあるがその数は少なく、また配列も比較的整っている (図 4)。

group 1：核は比較的 size が大きくなり、group 0 に比べて大小不揃いの核が配列を乱して並んでいる状態 (図 5)。

group 2：group 1 と 3 との中間の異形性と配列を示す (図 6)。

group 3：核は濃染し全体に大型で多型性を示し大小不同は著しく、またその配列も密でかつ不整 (図 7)。

一人の患者につき平均 5.7 カ所、総計 328 カ所の膀胱粘膜について、生検部位の染色度、および MCC による

group 判定を行い、その結果と実際の組織学的所見とを対比させ以下の検討を行った。

第一に隆起性腫瘍の染色性について、染色法や腫瘍の大きさ、形態あるいは異型度などによる違いを検討した。第二に MCC の上皮内病変の診断における有用性を検討した。第三に MCC により、生体内において腫瘍異型度の判定が可能か否かを検討した。

なお、統計学的検定には χ^2 二乗検定を用いた。

結 果

再入院を含めた患者延べ 57 名のうち、隆起性腫瘍の認められた者は 50 名 (単発 17 名、多発 33 名) であり、その内訳 (多発症例の場合は主たる腫瘍について分類) は乳頭状腫瘍 37 名、非乳頭状腫瘍 11 名、inverted papilloma 1 名および未分化癌 1 名であった。一方、内視鏡的に明らかな隆起性病変を認めない患者は 7 名おり、生検による診断は原発性上皮内癌 2 名、上皮異形成 3 名、Brunn 細胞巢 1 名および膀胱炎 1 名であった。

1. 隆起性腫瘍の染色性についての検討

1) メチレン青接触時間と染色性

メチレン青を 5 分間接触させた群と 60 分間前後接触させた群について、隆起性腫瘍をもつ患者 50 名を対象に腫瘍 (多発症例の場合は主たる腫瘍について) の染色性を比較した。その結果、5 分間接触群では染色度 A, B: 14 名, C: 1 名, D: 3 名に対し、60 分接触群では染色度 A, B: 25 名, C: 3 名, D: 4 名であり、どちらの方法を用いても染色性に差はなく、平均 86% の症例で MCC による観察が可能な染色度 C 以上の染色が得られた。

2) 初発、再発別、および抗癌剤膀胱内注入の染色性に対する影響

患者の初発、再発別に染色性をみると、初発患者 39 名中、隆起性腫瘍が全く染色されなかったもの 4 名に対し、再発患者では 19 名中染色されなかったものは 3 名で両者に差はみられなかった。

再発患者のうち抗癌剤の膀胱内注入療法を受けていた患者は 8 名いたが、このうち染色されなかった症例は 1 例のみであった。また 1 名は本検査の 1 カ月前に全身的化学療法を受けていたが腫瘍の染色は良好であった。

3) 腫瘍の発生部位、大きさ、腫瘍形態、および異型度 (grade) と染色性との関係

同一患者であっても腫瘍が多発している場合、それぞれの腫瘍によって染色性に違いがみられることも少なくなかった。このため各腫瘍別に発生部位、大きさ、

腫瘍形態、および grade と染色性との関係を調べた。対象患者50名の隆起性病変の総数は95個で、このうち3カ所は結果的に正常組織との診断が得られたため除き、残り92腫瘍につき検討した。

まず発生部位別にみると、腫瘍は後壁、側壁、三角部に多くみられたが、各部位で染色性に差はみられず、色素を膀胱内に注入した場合に接触しにくいと思われる頂部、前壁の腫瘍でも染色された。また、前立腺部尿道の腫瘍も染色された。

次に腫瘍の大きさを直径1cm 以下、1~3cm、3cm 以上の3群に分けて染色度を見てみると、1cm 以下の腫瘍では染色度 A、B、C、D はそれぞれ23、7、3、10腫瘍、1~3cm の腫瘍ではそれぞれ17、6、1、3腫瘍、また3cm 以上の腫瘍ではそれぞれ16、5、1、0腫瘍であった。この結果、腫瘍の大きさと染色性には関連はみられなかったが、全く染色されない腫瘍は1cm 径以下の小さな腫瘍に多かった。

腫瘍増殖様式と染色性との関係を表1に示した。乳頭状・有茎性腫瘍では染色度 A が24腫瘍、染色度 B、C はそれぞれ13、4腫瘍、全く染色されなかったものは12腫瘍あった。また、非乳頭状・有茎性腫瘍 (inverted papilloma) は1例しかなく、これは全く染らなかった。乳頭状・広基性腫瘍では染色度 A が12腫瘍、B、C がそれぞれ3、1腫瘍あり、染らなかったものはなかった。また非乳頭状・広基性腫瘍では染色度 A が20腫瘍、B が2腫瘍で染らないものはなく、乳頭状・有茎性腫瘍と比べ有意に染色性が優れていた ($p < 0.01$)。

また腫瘍の異型度と染色性の関係を表2に示した。92腫瘍のうち3腫瘍は良性 (papilloma, inverted papilloma、および Brunn's nest) であったため、残りの89腫瘍につき検討した。grade 1の腫瘍では19腫瘍中、染色度 A、B、C、D はそれぞれ6、5、3、5腫瘍であった。grade 2では50腫瘍中、染色度 A は32腫瘍 (64.0%) あり、B、C はそれぞれ11、1腫瘍であり染色が得られなかったものが6腫瘍あった。grade 3では20腫瘍中染色度 A が18腫瘍 (90.0%)、B、C が各々1腫瘍で、染色されないものはなかった。この結果から異型度の高い grade 2および3の腫瘍は grade 1の腫瘍に対し染色性が優れていることがわかった。

2. MCC はどの程度平坦な粘膜の異常病変を検出できるか

1) 平坦な粘膜全標本についての成績

平坦な粘膜からの生検は延べ57名の患者を対象に、

表1 腫瘍増殖様式と染色性

染色度	A	B	C	D	計
乳頭状有茎	24	13	4	12	53
非乳頭状有茎	0	0	0	1	1
乳頭状広基性	12	3	1	0	16
非乳頭状広基性	20	2	0	0	22
計	56	18	5	13	92

* $p < 0.01$ (χ^2 検定)

染色度 A : 濃密に染色された
B : 中等度の濃度、または部分的に染色された
C : 淡く染色された
D : まったく染らなかった

表2 腫瘍組織学的異型度と染色性

染色度	A	B	C	D	計
grade 1	6	5	3	5	19
grade 2	32	11	1	6	50
grade 3	18	1	1	0	20
計	56	17	5	11	89

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (χ^2 検定)

染色度 A : 濃密に染色された
B : 中等度の濃度、または部分的に染色された
C : 淡く染色された
D : まったく染らなかった

メチレン青によって青染した粘膜から125カ所、染まっていない粘膜から108カ所の合計233カ所を行った。なお、青染された125カ所のうち先の基準で group X が6カ所あったので、これを除いた119カ所と染っていない粘膜108カ所の合計227カ所の検討結果を表3に示す。

染色された125カ所の上皮を MCC による観察所見から、先に述べた基準によって group 1以上と判定したものと group 0と判定したものの2群に分けて、実際の組織学的所見と対比させた。その結果、119カ所のうち group 1以上と判定したものが53カ所で、このうち47カ所 (88.7%) が異常上皮 (primary CIS : 10, secondary CIS : 15, 微小浸潤癌 : 16, dysplasia : 6) であり、6カ所が正常上皮であった。一方、group 0と判定したものの66カ所のうち異常上皮は6カ所 (primary CIS : 1, dysplasia : 5) であり、残り58カ所は正常組織で2カ所が膀胱炎の組織所見であった。

次に染色されていない部分から行った生検においては108カ所から組織を採取したうち17カ所 (15.7%) に

表3 平坦な粘膜におけるMCCの所見と組織学的所見

組織学的所見	染色(+)		染色(-)	biopsy specimen (No. pts.)
	>group 1	group 0		
abnormal urothelium	47	6	17	70 (26)
primary CIS	10	1	1	12 (2)
secondary CIS	15	0	8	23 (8)
atypia, dysplasia	6	5	8	19 (10)*
微小浸潤癌	16	0	0	16 (9)
normal urothelium	6	58	88	152
cystitis	0	2	3	5
total	53	66	108	227 (57)

*うち3例はsecondary CISと重複

表4 MCC判定によるgroup別と組織学的異型度の比較

	group X	group 0	group 1	group 2	group 3	total
no malignancy	4	60	6	1	0	73
atypia, dysplasia	0	5	6	0	0	11
grade 1	3	1	6	6	0	15
grade 2	2	5	10	42	14	72
grade 3	2	0	7	8	16	33
total	11	71	35	57	30	204

異常上皮 (primary CIS: 1, secondary CIS: 8, dysplasia: 8)が検出されたが、これらの病変は主腫瘍近接部から多く検出された。残り88カ所は正常組織で、また3カ所には膀胱炎の所見が認められた。

2) 粘膜の発赤、ベルベット状変化をきたしていた上皮内病変に限っての成績

粘膜の発赤やベルベット状変化などは、従来上皮内病変の存在を示唆する所見とされている。今回、このような所見の見られた粘膜は74カ所あった。そのうちの52カ所が染色され、31カ所 (60%) に異常上皮 (dysplasia: 6, CIS: 12, 微小浸潤癌: 13)が見つかった。22カ所は染色されず、この中には上皮内病変 (dysplasia) が3カ所 (14%) あった。一方、このような所見のない全く正常にみえる粘膜は163カ所あり、このうち染色された粘膜77カ所から22カ所 (30%) に上皮内病変 (dysplasia: 5, CIS: 14, 微小浸潤癌: 3) が、染色されなかった粘膜86カ所からは14カ所 (16%) に上皮内病変 (dysplasia: 5, CIS: 9)が見つかった。したがって、発赤やベルベット状変化の見られる粘膜で、かつメチレン青によって染色された場合には、上皮内病変の存在する確率が高いことがわかった。

3. MCCによる腫瘍細胞異型度の判定

MCCを用いて腫瘍の異型度を生体内にてどの程度正確に判定できるかを検討した。表4は隆起性腫瘍で染色されたもの79, 平坦な粘膜で染色されたもの125の計204カ所の染色部位について、生検前に判定したgroupと実際のgradeとの関係をみたものである。その結果group 0と判定した71カ所の部位のなかに11カ所の異常上皮 (dysplasia: 5, grade 1: 1, grade 2: 5) が含まれていた。またgroup 1と判定した35カ所のうち6カ所は正常組織であったが、この中には上皮が剝離脱落したものも3カ所含まれていた。一方, group 2, 3と判定したものはほとんどが組織学的にgrade 2以上であった。このように核異型の強い high grade な腫瘍ではgroupとgradeとがよく一致することが判明した。

また無構造に濃染 (group X) するのはTURの切除後の瘢痕や炎症性の白苔の付着している場合に多かったが、今回の生検結果では7/11カ所に腫瘍組織が認められ、また未分化癌も表面が無構造に染色された。

考 察

メチレン青を用いた膀胱腫瘍の生体染色は肉眼的にはとらえることの難しい atypia, dysplasia などの前癌病変や, CIS, 微小浸潤癌の局在や拡がりを見つけた

す方法として試みられてきているが、その報告は少ない^{7)~9)}。これまでの報告をみても、メチレン青が腫瘍細胞内に選択的に取り込まれると、青い色素が周囲の正常粘膜と明らかなコントラストをつくるため、特に上皮内病変の識別に有用であるとされている。しかし、炎症、びらん、あるいは正常粘膜であっても染色される場合 (false positive) が比較的多く見受けられるため⁷⁾⁸⁾、特異性を欠くという欠点があり、そのため広く普及するには至っていないものと思われる。false positive に染色された部位を見分けるためには、通常の膀胱鏡では染色の濃淡のみによって鑑別するため客観性に乏しくなり、結局は生検による組織学的裏付けが必要であった。これらの欠点を補うために我々は染色部を microscope で観察する方法をとりいれたが、その control study の意味で、まず隆起性腫瘍に対するメチレン青染色の成績について検討してみた。

メチレン青による生体染色法に関しては Gill ら⁹⁾¹⁰⁾が行っているように、20cmH₂O の落差でメチレン青を膀胱内に点滴注入し 5 分間接触させる方法と、福井ら⁷⁾、井川ら⁸⁾が行ったように 50ml のメチレン青を注入し 1 時間接触させる方法の両者を試みたが、どちらの方法を用いても主たる腫瘍の染色率に差はなかったため、検査の簡便性を重視し、以後は後者の方法を用いた。またメチレン青の濃度は過去の報告者と同様 0.1% 液を用いたが、濃度については染色性の良否を左右する重要な因子と考えられ、今後さらに研究の余地があると思われる。

染色の結果は、今回の我々の検討では従来の報告にある成績とはほぼ同等であった。隆起性腫瘍の染色性の優劣は腫瘍の発生部位や大きさには無関係であり、腫瘍の異型度が高くなるほど良好な染色性を示した。異型度と染色性の関係については福井ら、井川らも同様に指摘しており、その理由として腫瘍の異型度が高くなるほど細胞間隙が疎になるために色素が浸透しやすいと考えられている¹¹⁾。今回の検討で非乳頭状広基性腫瘍が染色性が優れていたのも、この形態をとる腫瘍は異型度の高いものが多いためと思われる。

今回、我々が用いた colpomicroscopy は 1951 年、Antonie¹²⁾によって考案され、婦人科領域において子宮頸癌の超生体染色に用いられているが、膀胱腫瘍の生体染色への応用については未だ確立されたものはみられない。我々はメチレン青によって生体染色を施した膀胱腫瘍患者を対象に、拡大内視鏡での観察を行い、その診断的価値について検討した。

婦人科領域での colpomicroscopy の研究では血管像、細胞像などから異型上皮と上皮内癌の鑑別が行われている¹³⁾¹⁴⁾。このうち細胞像に関しては剝離細胞診の判定基準 (核の濃染性、多型性など) に加え、colpomicroscope の利点である細胞配列や密集度の状態などが加味されて悪性度が判断されている¹⁵⁾¹⁶⁾。我々はこれらを参考にしたが、メチレン青による生体染色では核が濃染し細胞質は淡く染まるため、核/細胞質比は分かりにくいことが多く、したがって核の形態、大きさ、配列、および染色の度合いなどから細胞の異型度を判断し、後述の 5 群に分類して検討した。

MCC 強拡大で染色部位を観察することによって、通常の膀胱鏡で観察した場合の染色部位の濃淡は、細胞 (核) 自体の染色の良し悪しに加え、染色された核の密集性が強く関与していたことがわかった。正常上皮が染色された場合 (図 4) のように、染色が膀胱上皮最表層のみにとどまっているときには核はまばらに見え、染色された核と核との間の染色されていない部分が広くみえるが、これは細胞質および一部の染色されなかった細胞が介在するためと思われる。一方、染色が上皮最表層のみにとどまらずに数層の深さまで達した場合には、表層細胞の細胞質を通して下層の核が透見されるため、図 5、6、7 のように濃く染った核の間に下層の淡く染まった細胞 (核) が混在し密集度を高めている。このような所見は異常上皮や炎症の場合に多く認められたが、これは色素の細胞間隙への浸透拡散が大きい¹¹⁾と思われる。このように MCC による観察は組織を正面から見ることになり、通常の病理組織診断よりもむしろ細胞診に近似した感覚が必要と思われる。

今回 MCC 所見を 5 群に分けて検討した。すなわち、無構造に濃染したため核の判別が不能な場合を group X として別にし、細胞像が観察できるものを group 0、1、2、3 の 4 段階に分けた。

小円形の核、あるいは小型の紡錘形細胞がほぼ均一な大きさとみられる場合を group 0 としたが、これは正常粘膜が染色された場合に多く観察された。膀胱炎の場合にはこのような所見に加えて、比較的大型の淡染した細胞が混在するのが常であったが、全体に核は小さく均一で、また粘膜の浮腫が存在すると核の配列はまばらになり、染色も淡くなる傾向がみられた。核の大きさが比較的大きくなり、group 0 に比べて大小不揃いの核が配列をみだしてならんでいる状態を group 1、さらに一層核が多型性を示し、大小不同が著しくな

り、濃染し、そして細胞が密に配列している場合を group 2, 3 とした。

これらの分類をもとに、まず正常、異常と大きく分けて MCC により判定した結果と実際の組織学的所見とを比べてみると、比較的良好一致の結果が得られた。今回、平坦な粘膜で染色された部位が125カ所あったが、そのうち53カ所を group 1以上と判定したのであるが、実際、組織学的にもその88.7%は判定通り前癌病変、または癌組織であった。一方、group Xを除いた残りの66カ所は MCC 上細胞異型なく group 0と判定したが、組織学的にはこのうちの9.1%に上皮内病変がみられたにすぎず、90.9%は判定通り異常はみられなかった。

このように、今回の経験からメチレン青による MCC は、単に染色の有無しかわからない通常の膀胱鏡に比べて細胞レベルの観察ができ、同じように染色された場所を正常と異常に識別することが大略可能であることがわかった。すなわち、MCC では false positive の染色を見分けることにより無用な生検を減らすことができると思われた。

MCC による細かい group 分けについては難点も少なからず認められるように思われた。すなわち grade 2, 3 のような場合、細胞異型が強いということは容易に判断できたが、grade 2と3を group 2, 3 ときっちり識別するのは容易でなかった。また grade 1と dysplasia の識別も難しいことが多かった。すなわち正常組織と癌との識別は MCC に慣れてくるにつれ可能となったが、grade の判定として group 1, 2, 3 と分けることは必ずしも容易ではないように思われた。判定に習熟することにより成績は向上するとしても、組織診と比べ、ある程度不満足であるのはやむをえないものと思われる。また、dysplasia は染色性が悪いこと、染色されても正常上皮との鑑別が難しいことから、これらの病変の検出については本検査法では限界があるものと思われた。

また、細胞成分がわかなくなるほど無構造に濃染する場合があるが、これは潰瘍や腫瘍の表面に白苔が付着している時、あるいは腫瘍の異型度が非常に高い場合が多く、今回の生検でも11カ所中7カ所に腫瘍細胞が認められた。したがって無構造に濃染した部位は生検をしておく必要があると思われた。

MCC 操作上の問題点としては、膀胱前壁や頂部など部位によっては microscope が届きにくく観察や生検が困難な場合があった。また、有茎性腫瘍の場合

microscope を近接させると腫瘍が逃げるため、十分接触させて観察できないことがあった。このような場合には、十分な拡大観察ができなかった。

MCC と尿細胞診との関係については今回は詳細には検討していないが、本検査を行っている際に染色された上皮が機械的損傷や灌流液による wash out によって剝離していく様子が時々観察された。このことから、組織検査では検出でない上皮の変化をむしろ MCC によってこそとらえ得る可能性があり、この点は CIS の診断としてしばしば細胞診が組織診より検出率が高いのと似た意味をもっている。

異型度の低い小さな腫瘍や上皮内病変の中には染色されないものがあり、まだ本法の問題点は多い。しかし、染色法そのものは簡便で患者の負担や侵襲もほとんどなく、MCC は従来の膀胱鏡や尿細胞診ではわかりにくい CIS や前癌病変のより正確な診断に有用な検査法となりうると思われる。

結 語

膀胱腫瘍患者、延べ57名に対し、0.1%メチレン青を用いた microscopic chromocystoscopy (MCC) を行い、以下の結果が得られた。

1) 隆起性腫瘍の染色性の優劣は腫瘍の発生部位、大きさには無関係であり、腫瘍形態では非乳頭状腫瘍が最も良好に染色され、また腫瘍の異型度が高いほど濃く染まることがわかった。

2) 平坦な膀胱上皮のうち、メチレン青で染色された125カ所を MCC によって観察し、細胞像を核の形態、大きさ、配列、および染色の濃淡より5つの群に分けた。細胞異型なしと判定した group 0では66カ所中60カ所 (90.9%) は正常組織であった。細胞異型ありと判定した group 1, 2 および 3 では53カ所中47カ所 (88.7%) に上皮内病変が確かめられた。非染色部位からも計108カ所から生検を行い、17カ所 (15.7%) に上皮内病変が見付かった。なお、無構造に濃染した場合 (group X) には、高頻度に癌組織が検出された (11カ所中7カ所)。

3) MCC による in vivo での腫瘍異型度判定は、組織学的に grade の高いものでは MCC の group と実際の異型度とはよく一致していたが、grade 1の腫瘍では正確な判定は難しかった。dysplasia については染色性が悪いこと、染色されても正常組織との判別が難しい場合が多く、これら前癌病変の検出には本検査法では限界があるものと考えられた。

以上の結果から、MCC は膀胱癌の in vivo での異型

度推定のみでなく、より正確な上皮内病変の検出に優れた検査法と思われた。

稿を終えるにあたり、御懇篤な御指導と御校閲を賜った九州大学熊澤淨一教授に深く感謝致します。また直接御指導を賜った真崎善二郎教授に心からの感謝の意を表します。本稿中の症例はすべて佐賀医科大学の症例であり、病理学的検査に快く御協力、御指導頂いた本学病理学教室、渡辺照男教授、杉原甫教授ならびに教室員各位に深謝致します。また本研究に御協力下さった当教室員各位に厚く御礼申し上げます。

本論文の要旨は、昭和61年4月12日、第74回日本泌尿器科学会総会において発表した。

文 献

- 1) Pyrrah, L.N., Raper, F.P. and Thomas, G.M.: Report of a follow-up of papillary tumors of the bladder. *Brit. J. Urol.*, 36, 14—25, 1964.
- 2) Heney, N.M., Ahmed, S., Flanagan, M.J., Frable, W., Corder, M.P., Hafermann, M.D. and Hawkins, I.R.: Superficial bladder cancer: Progression and recurrence. *J. Urol.*, 130, 1083—1086, 1983.
- 3) Eisenberg, R.B. and Schweinsberg, M.H.: Bladder tumors and associated proliferative mucosal lesions. *J. Urol.*, 84, 544—550, 1960.
- 4) Wolf, H. and Hojgaard, K.: Prognostic factors in local surgical treatment of invasive bladder cancer with special reference to the presence of urothelial dysplasia. *Cancer*, 51, 1710—1715, 1983.
- 5) Schade, R.O.K. and Swinney, J.: The association of urothelial atypism with neoplasia: Its importance in treatment and prognosis. *J. Urol.*, 109, 619—622, 1973.
- 6) Soloway, M.S., Murphy, W., Rao, M.K. and Cox, C.: Serial multiple-site biopsies in

patients with bladder cancer. *J. Urol.*, 120, 57—59, 1978.

- 7) 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. *臨泌*, 31, 607—614, 1977.
- 8) 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, 仁平寛巳: 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.
- 9) Gill, W.B. and Strauss, F.H.: In vivo mapping of bladder cancer (chromocystoscopy for in vivo detection of neoplastic urothelial surface). *Urology, Supplement* 23, 63—66, 1984.
- 10) Gill, W.B., Huffman, J.L., Lyon, E.S. and Bagley, D.H.: In vivo urothelial surface histology by microscopic chromocystoscopy. *J. Urol.*, 130, 669—671, 1983.
- 11) Strong, M.S., Vaughan, C.W. and Incze, J.S.: Toluidine blue in the management of carcinoma of the oral cavity. *Arch. Otolaryng.*, 87, 527—531, 1968.
- 12) Antoine, T. and Grunberger, V.: Der heutige stand der Auflicht-Microscopie in der Gynecologie. *Arch. F Gynaek.*, 180, 62, 1951.
- 13) 佐橋 徹: 子宮頸部上皮異常及び上皮内癌におけるコルポマイクロスコーピーの診断的意義について. *日産婦誌*, 27, 559—568, 1975.
- 14) Richart, R.M.: Colpomicroscopic studies of cervical intraepithelial neoplasia. *Cancer*, 18, 395—405, 1966.
- 15) 木下 博: コルポマイクロスコーピーに関する研究. *日産婦誌*, 11, 2008—2016, 1960.
- 16) 藤森速水, 野田 定: コルポマイクロスコーピー(腔顕微鏡診)の実際. *産婦の実際*, 15, 375—384, 1966.
(1988年9月13日受理, 特別掲載)