光線力学的治療に伴う細胞変化

Cytological changes caused by photodynamic therapy

野口正之, 玉地義弘, 篠原秀樹, 河手典彦, 小中千守,
加藤治文, 早田義博

Noguchi, M., Tamachi, Y., Shinohara, H., Kawate, N.,

Konaka, C., Kato, H., Hayata, Y.

東京医科大学外科

Cytological changes caused by hematoporphyrin derivative and Laser photoradiation were investigated both in vitro and in vivo.

In clinical materials the changes of lung cancer cells after laser photoradiation were examined and mouse kidney sarcoma cells were studied by phase contrast microscopy and electron microscopy. And Immunocytochemical staining for keratin, CEA and CA19-9 with ABC method was performed.

Light-microscopically, the initial morphological changes, swelling of cytoplasm, eosinophilic staining of cytoplasm were occurred after 10 minutes laser photoradiation. An electron microscopy study showed that initial changes occurred at the mitochondria. Immunocytochemically, Keratin staining showed marked changes.

1. 緒言

H p Dとアルゴン・ダイ・レーザーによる光線力学的治療は、新しい癌治療法の1つとして、確立されつつある。しかし、P D T後の細胞変化を経時的に追跡した報告は数少ない。そこで我々は、まず臨床例を対象として、P D T後の細胞変化を経気管支鏡病巣擦過細胞材料を用いて、形態学的及び免疫細胞化学的に検討し、更にMouse Kidney sarcoma cell (M-KSA cell)において、P D T後の細胞変化を位相差顕微鏡及び電顕的に検索した。

2. 材料及び方法

早期肺扁平上皮癌6例を対象としてP D Tを施行し、経時的に経気管支鏡的病巣擦過を行い、採取細胞にパパニコロ染色を施し、形態学的検索を、またKeratin, CEA, CA19-9に対する免疫細胞染色をA B C法により施行した。染色性の判定基準は、検索細胞の $\frac{1}{2}$ 以上が染色されるものを++：強陽性、 $\frac{1}{2}$ 未満が染色されるものを+：弱陽性、全く染色されないものを-：陰性とした。位相差顕微鏡、電顕を用いたin vitroでの経時的観察は、M-KSA培養細胞にP D Tを施行し、観察した。

3. 結果及び考察

Table 1, 2はin vivoにおける経時的形態学的変化、免疫細胞化学的变化をまとめたものである。形態学的変化は、10分後より細胞質膨化として出現し、1日経過すると脱核細胞等の腫瘍細胞の破壊像が著明となる。4日目になると、repair cellsが出現し、1ヶ月経過すると、正常気管支上皮細胞で修復されるのが観察された。免疫細胞化学的に、最も変化が認められたのは、Keratinであった。KeratinはP D T前の癌細胞6例中6例、100%に強陽性を呈した。その染色態度はびまん性、不均一に染色される傾向がみられ、一部の細胞では、細胞質内にも濃染するのが認められた。P D T10分後では、強陽性の67%、弱陽性33%と染色性の低下が認められ、染色態度も細胞辺縁に淡染する傾向がみられた。1～2日後には、腫瘍変性細胞の一部に陽性を呈すのみとなり、更

に染色性の低下が認められた。4日後、repair cellsが出現してくると、染色性の増加が認められ、1ヶ月後の正常気管支上皮細胞では、強陽性100%であった。in vitroの観察では、位相差顕微鏡による腫瘍細胞の動的变化は、光照射直後より細胞運動、核分裂の停止が生じ、次に細胞質の肥大、その後、核の肥大が認められた。電顕による超微構造の変化の観察では、P D T直後より、まずミトコンドリアの変性がみられ、次に、フリーボゾームの減少、小胞体の膨化等の細胞内器官の変化、ついで核の変化へと続き、最終的に細胞の破壊が認められた。

以上、P D T後の一連の経時的細胞変化をみると、P D Tの効果はまず、細胞質、特にミトコンドリアに出現し、形態学的変化に伴い、免疫機能的変化も認められる事が示唆された。

Table 1

P D T後の細胞形態学的変化(光顕)

10 分 後	一部の細胞で細胞質膨化・異染色性、核破壊
20 分 後	細胞質膨化・空胞変性・異染色性、核破壊
1 日 後	核の破壊、融解による細胞変性
2～3 日後	腫瘍細胞壊死
4 日 後	Repair cells (核小体著明)
8 日 後	Repair cells、未熟な扁平上皮化生細胞
1ヶ月以降	Recovery cells

Table 2

P D T後の免疫細胞染色的变化

		P D T前	10分後	20分後	1日後	2日後	4日後	8日後	4週後
KER (%)	++	100	67	67	33	17	67	67	100
	+	0	33	33	67	83	33	33	0
	-	0	0	0	0	0	0	0	0
CEA (%)	++	17	17	17	0	0	50	17	17
	+	33	33	33	50	50	33	33	17
	-	50	50	50	50	50	17	50	66
CA19-9 (%)	++	0	0	0	0	0	0	0	0
	+	17	17	17	17	17	17	0	0
	-	83	83	83	83	83	83	100	100