胃癌の細胞診に関する研究

東京慈恵会医科大学第三病院内科（主任 山田 欽教授）

山 田 欽, 清 水 進
湯 浅 謙, 村 沢 裕 啓

STUDIES ON THE CYTOLOGIC DIAGNOSIS OF THE STOMACH-CANCER

BY

Shitō Yamada, Susumu Shimizu, Ken Yuasa and Hiroaki Murasawa

Department of Internal Medicine, Tokyo Jikeikai

University School of Medicine

(Prof.: S. Yamada)

梗概 胃癌の細胞診手技として多層式重層遠心分離法並びに癌細胞誘発法を考案した。前者によって胃癌の材料を処理する場合、癌細胞は比重 1.045~1.055 の間に集中して集められるが、逆にこの比重に異型細胞を認める時は癌細胞と考えて良い。実施上注意すべきは分離面積と被検材料の量的関係で、分離の不完全な時は再度実施する。粘液にはスプレーゼ添加とガーゼ濾過を行なう。回転数は 5000r.p.m. が良い。回転数を増減しても各細胞の集中して集まる比重は変化しない。後者はナイトロミン50~100mgを静注し、6~8時間後に吸引液乃至洗滌液にて細胞診を実施する。34例に実施したが好成績で、手技も極めて簡単であった。又従来の方法では併用法が好成績であった。

I 緒 言

細胞診は胃癌の優れた診断法であるが、臨床においてはその実施法に改良を必要とする点が少なく無い。特に簡単で有効な材料の採集法と採集した材料の適切な処理法に成績改善の重要な鍵があると考えられる。

採集法として従来より実施されている方法は、胃壁に露出する病巣の表面を直接擦過せんとするものが多い。その為、操作が機械的で解剖学的関係の複雑な生体器管には奏効しない事もあり、実施が複雑な上、伴う苦痛も大である。処理法に関しては従来の研究に殆ど見るべき工夫が無い。しかも胃癌の材料には食物残渣、血液、扁平上皮等の夾雑物が多いので、少数の癌細胞では発見が困難である。

我々は細胞診の新しい試みとして材料の採集法には癌細胞誘発法を、処理法には多層式重層遠心

分離法を考案し、既に発表した如き好成績を得る事が出来た。特に前者によつて方法の簡易化、苦痛の軽減をみ、後者によつて標本の判定を容易にすると共に結果を更に確実にする事が出来た。

その後、漸次症例数も増加し胃癌の成績としてまとめる事が出来たので、こゝに発表して関係各位の御批判を仰ぎたいと思う。

II 多層式重層遠心分離法と

胃癌の細胞診に就いて

細胞診は診断の根拠を細胞個々の特徴に求める点が大きく、癌細胞の特徴と云うも固有と断定し得るものが殆どないため、少数の、特徴が不十分な細胞のみでは明確な決定を下す事が出来ない。又既に述べた如く、通過障害や機能不全のため食物残渣が停滞し易く、出血もしばしば見る現象で、上気道や食道に由来する扁平上皮も夥しく混ずるのが常である。

この様な材料から癌細胞のみを選択的に他の夾雑物と分離して集め、標本にする事が出来れば細胞の判定に有利で、癌細胞が少数の場合も発見が容易である。多層式重層遠心分離法はこの様な目的で、腹水の沈渣を連続切片とするいわゆる **cell-block** 法の所見から生まれた考案であるが、胃癌においても非常に好結果であつた。表1は従来の單純に塗抹した標本と本法によつて材料を処理した場合の標本について、検出した成績を比較したもので、明らかに本法が好成績を示している。

第1表. 多層式重層遠心分離法の成績

	單純に 塗抹した標本	多層式重層遠心分離法 にて処理した標本
陽性例数 ／ 症例数	25 ／ 33	32 ／ 33
%	75.7	96.9

実施法に関しては既に発表したもので、ここでは省略し、胃癌の材料における実施要点と最近一部に改良を加えているので、その概要を記述するに止めたい。

A) 分離面積について

良好な分離結果を得るためには予め知っていなければならない点が二、三あり、分離面積と被検材料の量の関係もその重要な一つである。漿液や吉田肉腫の細胞について材料中の細胞数を種々に変えて、それぞれに分離実験を行なうと、分離すべき細胞の総数が多過ぎる場合は分離の程度が不完全である。最も適当な細胞数は分離面積 1.5cm^2 (アラビアゴム溶液の境界面積、円柱状遠沈管ならばその横断面積に当る) につき $3,000/\text{mm}^3$ 程度の細胞数を有する被検液を 5cc 位使用する事であつた。しかしながら胃癌の材料は食物残渣や粘液等も分離すべき有形成分の主要な量を占めるため、分離結果の良否を論ずるには細胞の総数を規定するだけでは不充分である。

沈渣の量は細胞数程正確ではないが、他に良好なめやすがないので、沈渣の量と分離面積の関係

について最も良好な条件を追求してみた。その結果、分離面積 1.5cm^2 に対しては $1\sim 2\text{cc}$ 程度の量を使用するのが最良で、分離がよくなかった場合は再度分離操作を繰り返すと良好な標本を得る事が出来る。

遠沈管の形は分離面積に関係する点が大きく重要である。即ち管の下部が円錐状をなすものは円錐部の分離面積が小で、使用に制限がある。50cc用の太い管は分離面積が大きいけれども、分離された細胞の吸引が不便である。我々は厚さ1mm、内径1.4cm、長さ10cmの管底迄円柱状をした遠沈管を特製して使用している。

B) 粘液

粘液の存在はそのまゝでは分離を阻害する。最初は粘液を溶解する事によつて障害を除こうと考え、酸、アルカリ、トリプシン等を使用したが良い結果は得られなかつた。

現在では粘液を生食水の均等な稀釈液とし、粘性の強さを低下させる方法を採用している。勿論そのまゝでは均等な稀釈液とならない。スプレーを加え(2,000単位/cc)、2枚重ねた局方ガーゼで濾過する方法を採っている。

C) 回轉數

回転数の大小は遠心力の強さを決定する重要な条件である。回転数を大きくすると各細胞に働く遠心力の差が増大するので、比重の近似する細胞を分離するには好都合である。しかし余り無制限に大きくする事は細胞に悪影響を与えるため、漿液における実験成績に基づき、従来の 3,000r.p.m. を 5,000r.p.m. に改めた。

表2は色々な材料における細胞の分離比重値を比較したもので、各細胞は比重の差が大きくなる結果 3,000r.p.m. では分離する事の出来なかつた細胞も 5,000r.p.m. の採用によつて完全に分離し得る様になつた。しかし同種の細胞が集中して集まる比重には殆ど変化がない。これは細胞と同時に媒質であるアラビアゴム溶液にも同じ遠心力が働いているからで、回転数を大きくした場合に細胞を管底に向つて沈下させる力が増大する

第2表. 回転数の相異による分離状況の比較

3,000 r.p.m.		5,000 r.p.m.	
比重	各細胞	比重	各細胞
1.030 ~ 1.040	Fibrin血小坂 粘液破片	1.040	扁平上皮
1.040 ~ 1.045	扁平上皮	1.045 ~ 1.055	胃腺上皮 塵埃細胞
1.050 ~ 1.060	幼若リンパ球	1.050 ~ 1.052	骨髓芽球
1.054 ~ 1.076	細網細胞 中皮細胞	1.054 ~ 1.058	骨髓球
1.060 ~ 1.075	リンパ球 顆粒白血球 腎上皮	1.055 ~ 1.060	幼若リンパ球
1.075 ~ 1.080	赤血球 食物残渣	1.060 ~ 1.062	細網細胞 中皮細胞
		1.066 ~ 1.074	リンパ球
		1.075 ~ 1.080	顆粒白血球 赤血球
		管底	赤血球食物残渣

が、同時にアラビアゴム溶液の見掛けの比重も増大し、同じ比率をもつて細胞を静止させる力となるからである。たゞ大型の細胞や比重の軽い細胞、扁平な細胞等は粘性の影響を強く受けているため多少分離の比重値は変化する。この事は換言すれば、各細胞はそれぞれ独自の分離比重値をもち回転数には無関係であると表現出来る。この他分離が完結するのに必要な回転時間も短くて良いし、実施に当つて 3,000 r.p.m. の場合程熟練を要しない等便利な点が多い。

D) 癌細胞の比重

癌細胞は本法によつてその大部分を比値 1.045 ~ 1.055 の間に集中的に集める事が出来る。又この比重に異型細胞を認める場合は大体癌細胞と決定して良い事が確かめられた。材料によつては変性の強い癌細胞がこれより軽い比重にも少数見られるが、胃癌の材料ではかかる傾向が非常に少ない。如何なる比重迄癌細胞が、どの様な割合で分布するかを19例の胃癌から gastric balloon にて採集した材料について比重範囲を追求したが、上記の範囲を越えて少数の癌細胞が認められた症

例は僅かに3例であつた。従つて胃癌の材料から癌細胞のみを分離蒐集する目的には比重 1.045 ~ 1.055 の間を利用すべきで、我々は1.040, 1.045, 1.055の三比量層を用い臨床における慣用比重としている。即ち癌細胞は 1.055 の比重に集中して集める事が出来、食物残渣や血液、細網系細胞等は管底に、粘液の一部や扁平上皮等は 1.040乃至 1.045 の比重に取り除く事が出来る。

癌細胞の分布する比重範囲は材料によつて相当の開きがあり、漿液が最も広く (1.022~1.060)、次いで喀痰 (1.040~1.055)、胃の材料 (1.045 ~ 1.055) が最もせまい。同じ癌細胞でも材料の種類によつて分布する比重範囲に相違のある事は癌細胞の興味ある性質である。これは癌の種類とは関係なく、癌細胞の剝脱後の環境、即ち材料の成分がそれぞれ異なつているため、癌細胞の変性に相違を及ぼしたものと考える事が出来る。胃癌の場合が最もせまい点に関しては胃液の影響を考えたわけであるが、検討の詳細はこゝでは省略する。

III 胃癌の材料採集法の研究 (I)

擦過法と洗滌法の併用法について

胃癌の材料採集法として報告されている従来の方法は表3の如くで、これ等はその操作の性質から擦過を主とする方法と、洗滌を主とする方法に大別する事が出来る。前者においては abrasive balloon が、後者においては生食水洗滌法が最も広く実施されている方法である。

理論的には abrasive balloon が最も確実に癌細胞を採集出来る筈である。しかしながら口腔、咽頭、食道、胃を通過して病巣迄に至る経路は形

第3表. 胃癌の材料採取法

1. 生食水洗滌法
2. Papain 法
3. Chymotrypsin 法
4. Abrasive balloon 法
5. Antral abrasive balloon 法
6. Gastric brush 法
7. Abrasive gastric nylon brush 法
8. Gastric biopsy

態や機能が単純でなく、たゞの管ではない。従つて時に正しく胃内を擦過出来ない事がある。加うるに擦過法は確実に病巣表面を擦過しない場合は全く不成功に終る關係上、実施には相当な熟練と根気が必要である。洗滌法は胃内をくまなく洗滌するだけであるから、はるかに簡單で有効に違いないが、癌細胞を剝脱する力が弱い。

結局擦過法も洗滌法もそれぞれ異なつた長所と欠点を持つてゐるので、両者を併用して互いの欠点を補う事が成績を改善出来る一つの方法である。balloon の表面から掻き集めた材料と balloon の実施後に更に胃洗滌を行なつて得た洗滌液の兩者について成績を比較したが、表 4 の如く明らかに併用法の方が好成績であつた。この場合 Cooper 等の指摘する通り標本には癌細胞以外の夾雑物が多く、時に良好な標本を得られない事もあるが、我々は多層式重層遠心分離法も同時に実施しているため汚染による不便は全く感じなかつた。

第 4 表. 併用法実施の成績

	洗滌液	balloon又はbrushの表面を洗つた液	併用法実施
陽性 症例	11/16	14/19	18/19
陰性 症例	4/16	5/19	1/19

balloon のもう一つの大きな欠点は、浸潤により胃壁が硬化し狭窄の形を示す場合、殊に幽門狭窄の場合には、X線透視下で観察すると balloon が十分に膨化しないうちに噴門部にもどつてしまひ、十分に擦過出来ない事である。この様な場合には心臓カテーテルの先端にスポンジを付けた brush を考案して使用し、好結果を得る事が出来た。

IV 胃癌の材料採集法の研究 (2)

癌細胞誘発法について

胃癌は我が国における最も頻度の高い悪性腫瘍で、細胞診は單に胃癌と確定するだけの補助的手段でなく、早期診断の可能な独立の臨床手技と考

えるべきである。従つて多くの疑いに過ぎない症例も対象とするわけで、結果が確實であるのみならず実施も簡單で、患者の苦痛や危険、病巣への悪影響等が軽度でなくてはならない。

あらゆる面から完全無欠の方法は無いかもしれないが、ある程度これ等の条件を満足し得る方法として従来の手技と全く異なる着想から、患者に制癌剤、特にナイトロミンを投与する癌細胞誘発法 (又はナイトロミン誘発法とも云う) を考案し臨床成績を求めてみた。

A) 実施方法

空腹時にナイトロミン 50~100mg を静注し、6~8 時間後に胃液を吸引して被検材料とする。通過障害の無い場合は多孔性ゾンデにより、50~100cc のピストンで生食水を用いて坐位 10 回、臥位 10 回の胃洗滌を行なうと結果は更に確實である (臥位は背臥位及び腹臥位の両方)。

B) ナイトロミン総量とその副作用

表 5 はナイトロミン誘発法を考案する動機となつた要点を挙げたものである。即ち組織は死後変化によつて脆くなり易剝脱性を増すが、ナイトロミンを投与するとしばしば出血性となり死後変化と似た形態変化や生活力の低下と共に同じ様に易剝脱性も増すので、これを癌細胞の採集法に利用せんと考えた。

ナイトロミンの投与によつて、癌細胞が採集し易くなるか否かを追求するために、全体を明らかに触知し得る癌性腫瘍にナイトロミンを局所投与して穿刺細胞診の経過を求め、又肺癌の喀痰や漿液についても追求し、陰性症例を陽性に転化出来

第 5 表. ナイトロミン誘発法を考案した由來

1. 死後の組織は脆く、易剝脱性である。
2. 死後の剝脱細胞は生活機能なく、形態も変化している。
3. 制癌剤投与による癌細胞は上記の死後変化と似ている。即ち、形態が変化し、生活機能は減退を示す。
4. この他、制癌剤の投与はしばしば出血を來たし、脆く、陰性症例で癌細胞剝脱を促す事が確かめられた。

る事実を確かめているが、既に発表したので成績の詳細は省略する。

癌細胞を誘発する迄に必要なナイトロミンの総量は、胃癌と腹水のみが50～100mgと少量で充分であつたのに対し、他の材料では400～600mgの投与が必要であつた。胃癌の場合はナイトロミンの投与によつて嘔気来るので、相当強い不自然な胃の運動が惹起されるものと考えられる。従つて癌細胞の剝離にはナイトロミンの制癌作用のみでなく、この様な副作用も当然協調して働いているものと考えられる。胃癌の場合に必要なナイトロミン量が他の材料に比べて意外に少量でも良いのはこのためであろう。最近はこの副作用への考察から、高周波を癌局所に作用せしめて癌細胞を得る研究に着手している。

C) 臨床成績

現在迄にナイトロミン誘発法を実施した症例は34例で、表6は各採集法別に54例の症例における成績を比較したものである。症例別の成績も実施回数別の成績も共にナイトロミン誘発法が最も好成績であつた。

第6表. 材料採取別の細胞診成績
(胃癌54例について)

	擦過法	洗滌法	ナイトロミン誘発法
症例別の成績 陽性例/症例	17/20 85.0%	14/22 63.7%	33/34 97.6%
実施回数別の成績 陽性/回数	17/24 70.9%	14/25 56.0%	33/36 91.7%

表7は各症例の成績を表示したが、第1例及び第7例は吸引液、洗滌液、balloon、併用法のいずれも陰性で、誘発法によつて初めて陽性に転化した症例である。特に第1例は洗滌法 balloon 併用法を2回実施するも陰性で、3回目は偶然ナイトロミンを投与した後に実施する結果となつたものである。陰性は第31例であるが3年前 balloon 法にて腺癌と決定し切除した症例で、再発後2回実施したが陰性であつた。

表8は胃癌の部位や病型別に各材料の成績を比

第7表. 各症例の成績

No.	氏名	単純な 胃洗液法	ナイトロミン 誘発法	No.	氏名	単純な 胃洗液法	ナイトロミン 誘発法
1.		(-)	(+)	18.			(+)
2.		(-)	(+)	19.			(+)
3.		(+)	(+)	20.			(+)
4.		(-)	(+)	21.			(+)
5.		(+)	(+)	22.		(+)	(+)
6.		(+)	(+)	23.		(-)	(+)
7.		(-)	(+)	24.			(+)
8.		(+)	(+)	25.		(+)	(+)
9.		(-)	(+)	26.			(+)
10.		(+)	(+)	27.		(+)	(+)
11.		(+)	(+)	28.		(-)	(+)
12.		(+)	(+)	29.			(+)
13.		(+)	(+)	30.		(-)	(+)
14.			(+)	31.			(-)
15.			(+)	32.			(+)
16.		(-)	(+)	33.			(+)
17.			(+)	34.			(+)

(-)は多層式重層遠心分離法の標本のみが陽性の例。

第8表. 初回実施時の部位、病型別の成績

	擦過法	洗滌法	ナイトロミン 誘発法
硬性癌	0/2	0/3	2/2
幽門癌	1/5	4/6	6/7
その他	13/13	5/7	20/21
合計	14/20 70.0%	9/16 56.6%	28/30 93.3%

較した。従来の方法は胃癌の発生した部位や病型によつて成績に相違が認められ、幽門癌や硬性癌に於ける成績が不良であるが、誘発法では、これらに全く無関係の良好な成績であつた。特に幽門部の胃癌は临床上しばしば遭遇する早期胃癌の部位で、この成績が悪いとすれば細胞診が最も注目されている所の早期診断法にその眞価を充分發揮出来るとは言えないと思う。我々のナイトロミン

第9表. 特徴の比較

方法 項目	Gastric balloon 法	ナイトロミン 誘発法
細胞の形態	新鮮	クロマチン凝集 核小体濃縮 細胞径幾分少 染色性軽度低下
病型	幽門部は不適	凡ゆる病型に 適する。
病巣刺戟	大	治療の意味 もある
手技	複雑 熟練を要す	簡単
患者の苦痛	大	軽度

誘発法はこの点に関しても充分満足し得る成績であつた。又従来の方はさきに述べた如く病型によつて方法を撰択する必要もあつたが、我々の方法では全くその必要を認めなかつた。

表9は従来の方技のうち比較的成績が良好と言われる abrasive balloon とナイトロミン誘発法の特徴を比較したもので、ナイトロミン誘発法は操作の簡単な事、患者の苦痛や危険のすくない事、胃癌の発生した部位や病型が結果に影響する点の少ない事、病巣に悪影響のみられない等の優れた特徴が見られる。

V 考 案

細胞診の成績を改善する目的で多層式重層遠心分離法並びに癌細胞誘発法を考案し、特に胃癌における成績をまとめたが、この他、喀痰、漿液、穿刺等にも実施して非常に好成績であつた。又多層式重層遠心分離法は癌の色々な材料だけに止まらず白血病においてもその診断に役立てる事が出来た。即ち細胞診においては材料中の癌細胞のみを選択的に多数、比重 1.045～1.055の間に集める事を得、同時にその際の比重によつて細胞を判定する、新しい基準をもうける事が出来たが、白血病においても診断を確定出来る幼若球のみを集中的に集め、その比重によつて細胞の由来を決定する事が出来た(表2)。なお血液疾患の診断に関

しては別の機会に発表する。

最近における多層式重層遠心分離法や癌細胞誘発法の色々な材料における成績をあげてみると、前者では漿液が50/51・98.0%、喀痰では16/18・88.9%と好成績で、後者では喀痰の陰性7例と、穿刺細胞診陰性の7例を、おのおの6例づつ陽性に転化出来た。

我々の方法は勿論未だ完璧と言えるものではなく、今後更に研究を重ねる予定であるが、細胞診の様な確実さを癌の集団検診、特に胃癌にとりいれたいと考え、そのためには従来の方技が繁雑であつたり患者に苦痛を与えるものは適当でないで、その簡易化と云う意味で癌細胞誘発法を考案した。又多層式重層遠心分離法は細胞の判定に新しい基準をもうける目的で最初から比重に注目して研究を進めたもので、一応成功したと考えている。

V 結 論

胃癌の細胞診における手技として、多層式重層遠心分離法、癌細胞誘発法を考案したので実施要点と臨床成績を報告した。

前者によつて癌細胞は比重 1.045～1.055の間に集り、又この比重域に異型細胞を認める時は癌細胞と考えて良い事を確かめた。後者は従来の方技で、患者の苦痛の大きい方法に代り得る優れた検出成績が得られた。又従来の方技についても擦過法と洗滌法の併用法が最も好成績であつた。

参考文献

- 1) 黒川利雄他：診断と治療, 45, (2), 95, 昭32.
- 2) 綾部正大：胃癌の細胞学的診断, 1957. — 3) 太田邦夫：内科の領域, 4 (12), 703～712, 昭31.
- 4) 山田欽：慈恵誌, 74 (12), 2751～2770, 昭33. — 5) 山田欽他：日内会誌, 47 (5), 492, 昭33. — 6) 山田欽也：日消誌, 55 (11), 838, 839, 昭33. — 7) 山田欽他：日消誌, 56 (11, 12), 1095, 昭34. — 8) 清水進：日消誌, 55 (11), 795～807, 昭33. — 9) 榎本敏：大阪市大医誌, 5 (2), 221, 昭31. — 10) Papanicolaou: Atlas of Exfoliative Cytology, 1954. — 11) Graham: Cytologic Diagnosis of Cancer, 1950. — 12) Nieburg: Cytologic Technics, 1956. — 13) Osborn: Applied Cytology, 1953. — 14) Spriggs: Cytology of Effusions, 1957. — 15) Agranoff: Blood 9, 804, 1954. — 16) Spear: Blood, 3, 1055, 1948. — 17) Vallery et al.: Science, 3, 34, 1950. — 18) Cooper and Papanicolaou: J.A.M.A., 151, 10～14, 1953. — 19) Panico et al.: J.A.M.A., 143, 1308, 1950. — 20) Ayze and Oren: Cancer., 6, 1177, 1953.