細胞診の展望

—— 臨床病理的見地から ——

高 橋 正 宜*

はしがき

1956年10月，シカゴに開催された第1回国際癌細胞会議において Papanicolaou 博士は剥離細胞学の歴史的背景について指名講演をされたが，その冒頭に「私に指名の機会を与えられましたが近年この分野の1部に従事したに過ぎないのであって……」と謙虚な言葉をかかげているように，最も古いと思われる Donné (1838) の乳腺分泌物の初乳小体の研究は彼と Traut の子宮癌に関する輝しい業績に遡ること100年も以前のことである．Hoffmann & Dhyse[1] の細胞学的文献の集計によっても，1952年に至るまでに1,200を越す論文が現われている．しかるに Papanicolaou をして細胞診の代名詞ともする不動の地位を得さしめた理由は固定染色法に関する優れた研究と子宮癌に始まり全身諸臓器に及ぶ系統的研究により剥離細胞学という学問の一分野を確立したからにほかならない．

Papanicolaou 法の価値

Papanicolaou の基礎的な仕事は湿塗抹，迅速固定と複染色法にある．湿塗抹は Papanicolaou 染色を施す場合不可欠の要素であって，Giemsa 染色に慣れた医家，技術員にとっては乾燥標本を作製しがちである．乾燥標本は載せガラスに細胞を密着させ，細胞の固体相の分散を微細なものとしてとどめるのに対し，湿塗抹法は表面のぬれたままエーテルアルコールに固定するのであるから，固体相の分散はかなり粗大なものとなる．しかし，塗抹面は卵白グリセリンを塗布したもので，全周囲が強凝固剤の影響を直接に受けるわけではなく，懸念される細胞の収縮は或程度防がれ詳細な核構造を示すことになる．

具体的に言えば，Papanicolaou 染色は light green, orange g. eosin の酸性色素を含み，組織細胞の密構造を示すところには最も微細な粒子である orange G が，疎鬆構造を示すところには染料分子の大きい light green が好染するのであって，固体相の分散を阻止する固定法では鑑別的配合染色の価値を失わせる．実際細胞質はすべて一様に橙色に染められる．

この配合染色によって，重層扁平上皮の各層の細胞を分別し，婦人科領域における月経周期の追跡に役立つとともに腫瘍細胞の分化の度合をある程度認識させる場合がある．

Giemsa 染色は古来血液学の分野に使用され，粘液の少い液状検査物の塗抹標本には優れた染色性を示すのであるが，膣部塗抹や喀痰などでは部分的に厚い塗抹が避け難く，透徹性のすぐれた Papanicolaou 法が良好な染色結果をもたらすことになる．染色法をいずれにするかは細胞学者の選択にまかせられるが，多数の癌検診の細胞学的スクリーニングには細胞鑑別の容易な Papanilolaou 法が適当と思われる．

* 順天堂大学講師（病理学）

剥離細胞学の応用領域

細胞学の応用範囲は各種臓器の癌の診断にとどまらず，Papanicolaou の研究の発端となった婦人月経周期の診断をはじめ，放射線感受性の判定,性クロマチン決定,皮膚科領域における Herpes や Pemphigus の補助診断など，かなり広いものがある．膣スメアにおける月経周期の追求は副腎皮質ホルモンの広範な使用により修飾されることがあるので細胞学的解析には難解な点が多いが，その価値は決して少くない．月経周期に関する初期の研究はモルモットについて行われたものであったが (1917)，人体に研究の応用されたのは1933年に至ってである．今日では月経周期に関連する剥離細胞像の変移は勿論，妊娠による細胞変化[2]，破水の確認としての vernix caseosa cells (変性した胎児表皮細胞)[3] の意義などが記載されている．

子宮癌の細胞診

子宮癌に関する細胞診の価値は広く認識され，詳述する要もないが，今後の課題として残されているのは早期診のための screening program であろう．Heller[4] によれば108,000人のスクリーニングにおいて0.8%の陽性率を得ており，Erickson[5] も同様の80,000人について0.78%の陽性率をあげている．Erickson の1年後の再検査において0.19%に低下していることは興味深く，screening program の意義を再認識させるものである．

mass screening の一方法として近年螢光法が登場してきた．Acridine orange はその螢光色素の代表的なもので，核酸に強い親和性をもち，DNA に結びついて黄緑色の，RNA に結合して黄橙色乃至赤色を示す．しかも，その多染性は DNA, RNA の量的な差で螢光の強さが異なるため癌細胞のスクリーニングに適当であろうと考慮された．しかし，幼弱細胞や再生細胞など癌以外の細胞もかなり強い螢光を発して，結局最終的な判別には通常の染色法を施す要があること，変性壊死に陥った癌細胞には螢光の増強がみられず，また，分化の進んだ癌細胞にも必ずしも螢光の増強がみられないこと，スクリーナーの疲労の面から長時間の検鏡は許されないことなどから，mass screening に対しては否定的な論文が多い[6)7)8)]．これらの論文では診断の正確度についても Papanicolaou 法に比して著しく劣ることを記載しているのに対し，森田[9] は口腔癌細胞について反対に螢光法81.4%，Paanicolaou 法78.0%という成績を発表している．著者の少数例の経験では，多数の標本を長時間螢光顕鏡するときの疲労と，診断の確認のために重ねて Papanicolaou 法を施行する煩雑な面から日常検査法のひとつとし採用することに疑問をもっている．

婦人科領域における近年の討議の課題は前癌性変化から上皮内癌に至る一連の病理学的変化の診断である．上皮内癌を癌へ進展の一段階とみて前癌状態と同義に解する姑息的な見解はさておき，病理学者に許容されている癌進行の一つの時相とみた場合，上皮内癌を浸潤癌から剥離細胞的に区別することは極めてむつかしい．広く採用されている Papanicolaou の分類を class Ⅲ → anaplasia, class Ⅳ → carcinoma in situ, class Ⅴ → invasive carcinoma とする判定は混乱を招くものとして同意しがたい．しかしながら，この興味深い分類を理論づけるならば，上皮内癌の定義を**粘膜上皮全層が未分化な基底細胞型の異型細胞で置換されたもの**として狭義に解するとき，上皮内癌の推論は可能である．剥離細胞的にはその定義に一致して，基底細胞型の異型細胞が圧倒的に優勢を示し，壊死細胞の混入も殆んどない．組織学的に狭義の上皮内癌は少くないが，**浸潤癌の形態的 variation と同様に上皮内癌にも分化の巾があり浸潤癌の細胞と区別しがたい異型細胞でもって上皮全層の置換された状態**を上皮内癌と広く呼称するため細胞学的鑑別に無理な面が多い．更に微小浸潤癌の隣接上皮を精査すると異形成変化

や上皮内癌に一致する変化が少くない．この点からも組織的浸潤癌の判別は細胞レベルでは困難である．

強調したいことは上皮内癌から微小癌を含めた所謂早期癌診断の可能性であり，Erickson[5]の mass screening における0.78％の陽性例中0.47％が癌の疑をもたれなかった症例であることはそれを裏書きする事実といえよう．

放射線感受性と細胞診

1947年[10]子宮頸癌における腟部上皮細胞の放射線照射効果が記載されて以来，一連の研究成果の発表をみたが，細胞変化と予後との関係は近年の研究課題としてあげられよう．Graham のかかげる腟部上皮細胞の急性変化像は

i) 細胞質及び核の膨大
ii) 核の皺襞形成
iii) 細胞質の空胞化
iv) 多核形成
v) 異様な細胞形態の出現

などであるが，悪性細胞に対する変化像も良性細胞に対する変化と同様である．腫瘍細胞の放射線による形態的反応と再発能力有無の問題は未だ解明されていないが，治療終了後長期間放射線反応細胞の出現することは背後に腫瘍の残存することを意味し，治療中，或は治療後放射線非反応細胞の脱落をみるときは，腫瘍の放射線抵抗性を指摘する（Koss）[11]．Graham は放射線治療の効果は腫瘍の形態よりは生体の生物学的反応に基ずくという仮定を基礎として良性上皮細胞の変化を観察し，放射線反応細胞の剥離上皮細胞に対する百分率（R.R.）が75％以上の場合 good response，65％以下の場合 poor response とした．5年生存率や局所再発率に明かな差異が示され，臨床的に放射線治療効果を予測することを記載しているが，良性上皮細胞の反応が癌の治療効果を代表するという生物学的機序は明かにしていない．著者[12]の食道扁平上皮癌に対する術前照射の経験においても，顕著な癌巣照射効果のある症例では隣接の重層扁平上皮に高度の変性がみられ，術前食道ブラシの塗抹標本に明かな good response が確認されたことは Graham の記載に一致した所見といえよう．Graham らの近年の研究では，照射前基底細胞に照射後の反応と同様な形態変化のみられる場合，sensitization response（SR）と呼び，SR 細胞が10％を越すとき放射線治療効果を期待できるとしている．SR 及び RR の予後との関係は今後の追求されるべき課題として残される．

其他諸臓器の細胞診

癌の細胞学的診断の範囲は殆んど全身の諸臓器に亘り，試験切除の前段階として応用価値は高い．しかも局所解剖的に容易に試験切除の許されない臓器が対象となる場合，即ち肺，胃腸，胸腹腔，尿管腎盂，髄膜腔などには細胞レベルの形態学的診断として価値が高い．試験切除による組織診に病巣が確実に含まれる場合確定診断を与えるのであるが，屢々切除部位が病巣をはずれることがある．擦過塗抹は試料の採取領域が広汎であるため，スクリーニングとして優位をしめるであろう．

1) 肺

検査の対象として最も普遍的な試料は喀痰である．気道は生理的にも分泌物を排除し，われわれは無自覚のうちに嚥下しているのであるが，気道の変化に伴う咳嗽によって積極的に分泌物が排除されるので病巣の末梢或は周辺に呼吸機能が残存し，気道の閉塞がない場合，癌細胞の排出は高率である．諸家の報告では診断率が50～91％[13)～18)]と巾が広いが，子宮頸癌のそれと異り試料の採取法，処理法に影響する因子が複雑であるとともに病期の差という大きな因子が加わるからである．肺癌患者の疾病の歴史において，いかに末期であろうとひとたび陽性であれば陽性率を満足させ，診断率(sensitivity)も正診率(accuracy)も高まることになる．したがって

その高い診断率も可視範囲にあって carcinoma in situ の診断可能な子宮癌の診断率とは質的に異るのである．現在の研究課題は初期癌，或は遅くとも curable cancer の発見に注がれている．方法論を詳述する紙面もないので種々の工夫を列挙すると，採取試料から癌細胞の集合をはかる集細胞法[19)~22)]，異った比重のアラビアゴム液を重層遠沈して癌細胞を集める方法[23)]，Millipore filter 法[18)]，病巣の気管支にブラシ乃至鋭匙を挿入して積極的に試料を得る方法[24)~27)]，蛋白分解酵素のキモトリプシンを投与して細胞の脱落をはかる方法[28 29)]，咳嗽刺戟を与えて分泌物の喀出を促がす方法[30)31)]などがあげられる．

現在，細胞診断施設においては悪性細胞の有無にとどまらず細胞型分類を附記する段階にある[32)33)]．著者は気道の剥離悪性細胞に対して類表皮型（扁平上皮型），腺型，低分化型，未分化型の4型に大別して組織型との対比を試みた．分化方向の明白な腺癌，扁平上皮癌，或は未分化で細胞構成の単純な未分化癌（単純癌）にはかなりの高率で一致をみたが分化の低い腺癌や扁平上皮癌の推定は困難である．**細胞診は剝離のチャンスの多い優勢細胞型に片寄るのに対し，組織診断では分化の最も高い組織像に焦点を合せる**ため診断のずれが起るのは当然である．肺癌においては組織像の差異によって癌進展の態度が異り，早期に癌の組織型が推定できれば臨床面でも極めて有効である．

2) 胃・食道

胃癌細胞診の陽性率の過去の著しい低率から（22%：単純胃液吸引法 Papanicolaou）近年の90数%という高率への飛躍は，単純な胃液検査法にはじまり現在の酵素液洗滌法，擦過バルーン法，ファイバースコープ併用法に至る試料採取法の歴史に平行する．胃には気道のような生理的排除能力もなく，胃液をプールする容器に過ぎないから，採取法の改善が診断率を大きく支配したのである．一方胃カメラ，胃鏡という内視鏡の威力は可視範囲の広さからいって気管支鏡よりも遙かに大きく，その併用によって診断は一段と確実さをもってきた．

しかし厳密な早期癌，つまり胃粘膜上皮に限局してリンパ節転移の認められないもの，或はやや定義を拡めた臨床的早期癌[35)]（胃粘膜下に浸潤がみられるが筋層に及ばず転移巣のないもの）の発見は少く，山形内科[36)]の506例の胃癌でさえも粘膜癌は20例にすぎず，細胞診陽性率も疑陽性を除外すると65%（20例中13）と全症例の86.9%（582例中505）には遙かに劣るものである．しかしながら，広義の早期癌の術後遠隔成績において，5年生存率87.5%[35)]と著しく高く，且つ，細胞診も65%という比較的高い成績をもって診断できることは無症状期の自発的な検査，即ち人間ドックにおける細胞診の必要性を裏書きするであろう．

従来諸家の診断成績については枚挙にいとまがないので，各種採取法による成績の最も良いものをあげると，生理的食塩水洗滌法：Raskin 95.4%，キモトリプシン洗滌法：山形94.4%，擦過バルーン法：Graham 93.8%と略々同様な好成績が示されている．しかしこれらの方法を比較検討した信田[37)]の報告では，擦過バルーン法89.2%，α-chymotrypsin 液洗滌法86%，生理的食塩水洗滌法71.1%である．石岡[38)]の報告では擦過バルーン法90%，Chymotrypsin 液洗滌法92.9%，生理的食塩水，Ringer 液洗滌法73.2%といい，いずれも蛋白分解酵素液洗滌法と擦過バルーン法とに大きな差異はなく，現在普遍的に使用されているのもこの2法である．両者の特徴を要約すると

擦過バルーン法

a) バルーン嚥下時患者に苦痛を与える．

b) バルーン挿入の手技とX線透視という煩雑さを術者にかけるが，他方病巣から機械的に擦過した新鮮な細胞を得る．

c) 擦過され易い胃体部と噴門部に陽性率が高い．

酵素液洗滌法

a) Levin チューブを挿入するのみで手技は容易で患者に与える苦痛がない．

b) 蛋白分解酵素により胃粘液苔を除去し癌細胞の剥離をはかるが，バルーン法と異り，目標とする細胞の密度が低い場合や，多少とも変性の伴った細胞を検査対象とする．

c) 胃前庭，幽門部の癌に対しても陽性率の低下はない．

食道癌のための試料採取法も胃癌の場合と同様，洗滌法，擦過バルーン法，廻転擦過法，食道鏡下擦過法，などがあげられる．著者はゾンデを介して自由に屈曲する細い金属柄の先端に小ブラシのついた擦過器を挿入し，X線透視下細胞を積極的に捕えている．食道に対する洗滌法は洗滌液の吸引が不確実であるばかりでなく新鮮な細胞も得がたいので，挿入容易なブラシ法の普及が望ましい．

今後ファイバスコープ使用下細胞採取法の駆使によって所謂早期胃癌の容易になることは大いに期待されてよく，我国における癌死亡例の60～70％を占める胃癌死亡率が低下しない限り，多くの専門家の90％前後の診断率も机上の理論と孤立化する懼れがある．

3) 泌尿器

尿中癌細胞の診断は Papanicolaou & Marshall (1945)[39] 以来広く試みられるようになった．日常の尿沈渣の検査においても見出されるのであるから(Sanders 1864)，決して新しい検査ではないが，泌尿系の癌の診断に系統的に検索されるようになったのは比較的近年のことである．Papanicolaou は被検尿に対して95％アルコールを等量に追加することをすすめているが，核濃縮像を起して判別に困難をきたすので推奨しがたい．著者はあらかじめ調製貯蔵してある処置液（Ringer 58cc＋Formalin 2cc＋無水アルコール 40cc）を等量，採尿後直ちに加え，適当な時に遠沈操作に移る方法を推奨したい．この処置液の使用は細胞成分の集合を促進すると同時に細胞変性を防ぎ（24時間後も診断の価値を失わない），時間的余裕を与えるものである．von Haam[18] は膀胱腫瘍に対して陽性率86％，偽陽性2％と好成績を示しているが膀胱鏡の可視領域にあり，乳頭腫と分化性乳頭癌との判別は細胞配列像の観察を要するものであるから試験切除の適当な臓器である．乳頭腫は剥離細胞的に多くは class Ⅲ で表現されるものであるから，Papanicolaou の分類に基ずいて疑陽性を除外すれば診断率は更に低いものと想定される．von Haam の86％は恐らく class Ⅲを含めたものと推測され，診断率70％とする Hazard の記載に加担したい．要するに class Ⅲを含めた尿所見は乳頭腫を含む腫瘍の存在を疑う一次的スクリーニングとして価値があろうし，術後の経過観察で再発を警戒する一法としても利用されよう．

腎上皮癌については腎盂，尿管を侵襲しない限り癌細胞の尿中への脱落はあり得ない．

4) 漿膜腔

胸腹水中の癌細胞診は末期癌の確認にあって治療に希望を与えるものではないが，肺硬塞，肝硬変などに伴う中皮細胞の増生はしばしば癌との鑑別で問題となる．つまり非悪性疾患の肯定という点で重要である．

ここに注意すべき問題は癌性胸腹水においてもその陽性率は必ずしも高くなく，Luse & Reagan[41] によれば癌性胸膜炎，腹膜炎の症例339例中陽性は252例（74.3％）という．著者の最近3ヶ年の経験では総件数232のうち腹水の陽性27例，胸水19例で，診断率（sensitivity）は腹水76.5％，胸水88.9％である．つまり，胸腹水の陰性は必ずしも悪性腫瘍を否定できない難点がある．ことに腹水について発見の不能であった8例の内容は肝癌6，胃癌1，横紋筋肉腫1で肝癌における腹水中の癌細胞発見はかなり低率（50％）を示したのである．

結　語

以上述べたほかに，髄液，乳腺分泌物，前立腺分泌物や，腫瘤に対する直接の穿刺細胞診など諸臓器癌の細胞診断として応用範囲は極めて広い．

細胞診の展望という主題としては，細胞学の側面を述べたに過ぎないが，血液塗抹標本を染色できる器具があれば容易に入門できる剥離細胞学が日常臨床検査の一つとして駆使されることを切に望むものである．

文　献

1) Hoffmann, E.F., & Dhyse, F.G.: A bibliography of the cytologic diagnosis of cancer. National Cancer Institute 1952.
2) von Haam E. Acta cytol. **5**, 320, 1961.
3) Hopman, B.C., Wargo, J.D. & Werch, S.C.: Obst. & Gynec **10**, 656, 1957.
4) Hellier J.R.: First International Cancer Cytology Congress Transactions p.15, 1956.
5) Erickson, C.C.: Ann. New York Acad. Sc. **63**, 1054, 1956.
6) Liu, W.: Arch. path. **71**, 286, 1961.
7) Elevitch, F.R. & Brunson J.G.: Surg. Gynec. & Obst. **112**, 3, 1961.
8) Anderson, W.A.D. & Gann, S.A.: Acta cytol. **6**, 468, 1962.
9) 森田知生：日本臨床細胞会誌，**2**, 107, 1963.
10) Graham, R.M.: Surg. Gynec. & Obst. **84**, 153, 1947.
11) Koss, L.G.: Diagnostic cytology. J. B. Lippincott Co. 1961.
12) 中村雅夫，小松健司，高橋正宜：気管食道学会総会，1964年9月.
13) Farber, S.M., et al.: Cytologic diagnosis of lung cancer, Charles C. Thomas, Springfield, Ill., 1950.
14) McDonald, J.R.: Am. J. Surg. **89**, 462, 1955.
15) Spjut, H.J., Fier, D.J., & Acker, L.V.: J. Thoracic Surg **30**, 90, 1955.
16) Herbut, P.A.: Ann. New York Acad. Sc. **63**: 1374, 1956.
17) 和田直，宮西通博：胸部疾患，**8**, 624, 1964.
18) von Haam, E.: Acta Cytol. **6**, 508, 1962.
19) Pharr, S.L. & Farber, S.M.: Acta Cytol. **6**, 447, 1962.
20) Takahashi, M. & Urabe, N.: Cancer **16**, 199, 1963.
21) Saccomanno, G. et al.: Acta cytol. **7**, 305, 1963.
22) Ellis, H.D. and Kernosky, J.J.: Acta cytol **7**, 372, 1963.
23) 山田欽ほか：日本内科学会誌，**48**, 89, 1959.
24) 土手内守人ほか：胸部外科，**10**, 836, 1957.
25) 坪井栄孝：日本医学放射線会誌，**19**, 15, 1959.
26) 服部正次ほか：胸部疾患，**7**, 7, 1963.
27) 堀江昌平：日本胸部疾患学会総会発表，1963.
28) 高橋正宜，長田浩：日本胸部臨床，**22**, 252, 1963.
29) 筬島五郎ほか：癌の臨床，**9**, 192, 1963.
30) Bickerman, H.A., Sproul, E.E. & Barach, A.C.: Dis. chest **33**, 347, 1958.
31) Roberts, T.W. et al: Acta cytol **7**, 174, 1963.
32) 高橋正宜：日本臨床，**20**, 1805, 1962.
33) 和田直ほか：癌の臨床，**9**, 191, 1963.
34) 高橋正宜：医事新報，未発行.
35) 山形敞一：内科，**13**, 1051, 1964.
36) 山形敞一：癌の臨床，**7**, 109, 1961.
37) 信田重光ほか：消化器病臨床，**5**, 763, 1963.
28) 石岡国春：臨床病理，**9**, 285, 1961.
39) Papanicolaon, G.N., & Marshall, V.F.: Science, **101**, 519, 1945.
40) Hazard, J.B.: Transactions First International Cance Cytology Congresos **101**, 1956.
41) Luse, S.A., & Reagan, J.W.: Cancer, **7**, 1167, 1954.