

細胞診検査における液状検体から効率的に細胞成分を回収することを目的とした凝集剤の開発

研究機関 研究者

富山大学大学院 医学薬学研究部医学科 教授 井村 穰二
 徳島大学大学院 医歯薬学研究部 疾患病理学分野 教授 常山 幸一
 (株)インパクト 山名 時弘

目的

我が国における膀胱がんの発症は人口10万人当たり患者10人程度と言われている。これまで検診を含め、早期発見の手段として、尿中に剥離してきたがん細胞を発見する尿細胞診が広く用いられている(図1)。本法は侵襲性が低く、汎用性が高い反面、尿中に剥離してくる細胞が極めて少ないため、それらを喪失することなく確実に回収することが難しく、捕捉することができず、結果的にがん状態を確実に診断することができないことがある。そのような状況を改善するためには、数少ないこれらのがん細胞を確実に回収する手段を開発することである。その一つにこれまでセルブロック法が行われてきた(図2)。しかし、手技が煩雑であり、多くの検体に用いることは作業効率からみても著しく低く、何らかの改善が必要とされてきた。

今回、この問題点を解決する一手段として、産業廃棄物やそれらに伴って生み出される廃液の処理に用いられる凝集剤を応用して、尿細胞診の抱える問題点を解決するための検体処理に用い、今後の製品化を目標とした検討を行った。

材料と方法

1. 材料

膀胱がんおよび慢性膀胱炎患者などの自然尿(約30-50ml)並びに肺がんおよび非腫瘍性患者貯留胸水の検体を無作為に選択し、通常の細胞診検査のために供された後の残余検体を本研究の材料とした。用いた残余検体は、遠心並びに特別な処理を行わず、下記の方法で処理を行った。

2. 方法

- (1) 各種(高~低)カチオン、アニオンの凝集促進剤を種々の割合で尿検体と混合し、凝集の有無を確認した。
- (2) 凝集促進剤として、ポリ塩化アルミニウムと硫酸アルミニウムを上記凝集促進剤と混合した検体に加え、農薬混和して凝集塊の形成が促進されるか検討した。
- (3) 上記(2-1)並びに(2)で得られた凝集塊を手で回収し、20%緩衝ホルマリンで1時間固定後、通常のパラフィン包埋切片をヘマトキシリン・エオジン染色を施し、顕微鏡下に観察した

結語

検体中に剥離してくる細胞数が少ない尿並びに胸水検体でも、従来の作製法に比して、簡便で、確実・優位に目的とする細胞を回収することが可能となった。特に、細胞凝集剤単独でも細胞の回収は可能であったが、凝集促進剤であるポリ塩化アルミニウムは硫酸を添加することで、より効率の高いかつその後の作業がし易く、簡便化することができるようになった。

本法は、これまでの細胞診検査の作業工程の省力化に寄与するだけでなく、高価な試薬あるいは機器を必要としない点でも優位性に優れている。

今後、本研究を基盤として、汎用性に優れた製品化が可能と考えられ、各医療機関における細胞診検査施設に取り入れられるものと確信する。

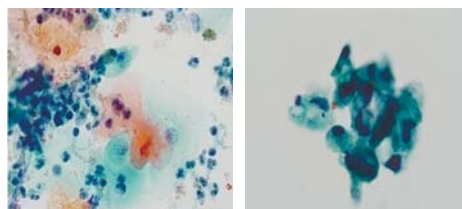


図1 尿細胞診(Papanicolaou染色)
 健康人の正常細胞 膀胱がん患者のがん細胞

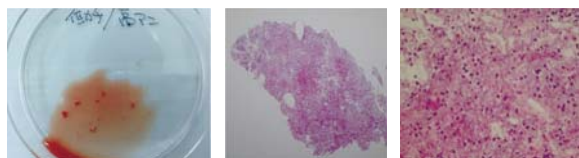


図3 凝集促進剤(低カチオン+高アニオン)による胸水検体の細胞凝集(左図):血性胸水とともに凝集塊の形成を確認できる。凝集塊の組織像(中、右図):凝集塊は蛋白質の凝固物(多くはフィブリン)と内部に、単離性に細胞成分を観察できる。

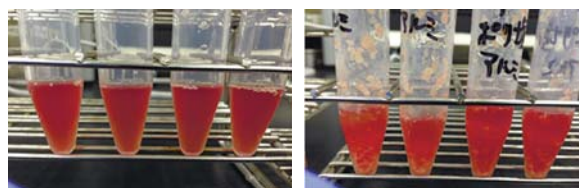


図4 凝集促進剤の効果(左図:促進剤のみ、右図:促進剤添加)促進剤のみでは、検体の混濁と浮遊する凝集塊を認める一方、促進剤添加を添加することでゼラチン状の固形物が観察され、容易に固形物が回収できる。

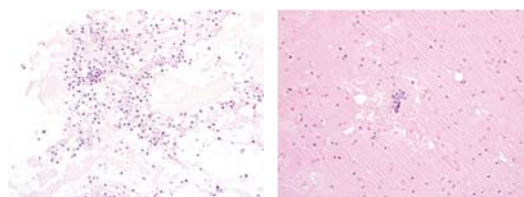


図5 促進剤添加材料添加検体の組織像。左図:ポリ塩化アルミニウム、右図硫酸アルミニウム。両者とも細胞数に関わらず多くの細胞を回収することができる。