

紫外線膀胱鏡による膀胱腫瘍の診断に関する研究

——とくに発色蛍光色調の由来について——

大阪府立成人病センター 細胞診断科

野 田 定

成 瀬 靖 悦

大阪府立成人病センター 泌尿器科

伊 藤 泰 二

STUDIES ON FLUORESCENCE CYSTOSCOPY

—OBSERVATIONS ON THE DIFFERENT FLUORESCENCE OF NORMAL
AND MALIGNANT TISSUE STAINED *IN VIVO* BY ACRIDINE ORANGE—

Sadamu NODA and Yasuyoshi NARUSE

From the Department of Cytology, the Center for Adult Diseases, Osaka

Shinji ITO

From the Department of Urology, the Center for Adult Diseases, Osaka

Acridine orange (AO) is a fluorescent dye which has been widely used in a staining method of exfoliative cytology. This basic dye has strong affinity for nucleic acid in fixed cells as well as in living cells.

The authors have already reported on fluorescence cystoscopy for early detection of cancer of the urinary bladder in which living epithelium of the urinary bladder was stained with AO. Normal intact epithelium showed green fluorescence and injured epithelium showed red fluorescence. Malignant epithelium of the bladder showed characteristic yellow fluorescence. The reason for this phenomenon has not been clear up to the present.

Several reports have been published concerning the mechanism of emission of green, red and yellow fluorescence in various epithelium vitally stained with AO. These reports were taken into consideration in the present investigation.

The interaction between intracellular nucleic acids and AO was studied based on fluoromicroscopy of fresh cells and non-fixed frozen sections obtained from vitally stained portio vaginalis and urinary bladder.

The results obtained are as follows:

- 1) Metachromatic shift occurs in AO solution as the concentration of AO increases.
- 2) Green fluorescence of normal intact epithelium is found to be due to the orthochromatic green fluorescence of the epithelial cells. It is supposed that this is due to the fact that nucleic acid-AO complex is formed mainly as the monomeric binding of AO to DNA.
- 3) The red fluorescence which injured epithelium shows is metachromatic red fluorescence of the cytoplasm. It is supposed that this is due to the fact that nucleic acid-AO complex is mainly formed as the dimeric or polymeric binding of AO to RNA.

4) The yellow fluorescence which malignant epithelium shows is metachromatic yellow fluorescence of the cells, especially of increased nuclei. It is supposed that this is due to the fact that nucleic acid-AO complex is formed as the monomeric and dimeric binding of AO to DNA and RNA.

Although studies on the mechanism of emission of yellow fluorescence in malignancy are still being carried on, the authors recommend the fluorescence cystoscopy as a useful new procedure for early detection of cancer of the urinary bladder.

はじめに

従来の膀胱鏡による膀胱腫瘍の診断にさいしてはつぎのようなその限界を示すいくつかの問題点がある。

1) 慢性炎症性変化との鑑別の困難な症例があること。このような症例は意外に多く、しかも典型的な膀胱内腔への突出を示さず、むしろ上皮下や筋層内へ早期に浸潤する悪性度の高いものが多いので問題は重要である。

2) 腫瘍と正常上皮との境界が判然としない症例がすくなくないこと。すなわち、腫瘍であるとの診断ができてその境界が明瞭でなければ治療方針の選択も困難である。

3) ごく初期の腫瘍の見落とし。ごく初期の腫瘍はかなり熟練した検者が注意ぶかく観察してもこれを見落とすことがある。

4) さらに腫瘍が内視鏡的に明確な形を呈する前に不可視の状態で数カ月もあるいは数年も経過する症例のあることは尿中剝離細胞診による経過観察などから近年指摘されているところである¹⁾。

伊藤²⁾は以上のごとき従来の膀胱鏡検査にさいしての問題点を克服するために腫瘍組織と親和性を有する acridine orange (以下 AO と略記) を生体に投与し、その発する蛍光差によって腫瘍組織を選択的に認識しようと試み、この目的のために用いる紫外線膀胱鏡をあらたに開発し、これを用いて若干の知見を得、すでに報告した。すなわち、核酸に対して強い親和性を有し、単一染色ながら fluorescence metachromasia を呈する AO の 0.1% 水溶液を用い紫外線膀胱鏡で観察すると、一般に正常上皮は緑色蛍光を、腫瘍は緑黄色～黄色～橙黄色の蛍光を、さらに変性、ピラン組織、粘液などは橙赤色、赤色を呈し、これらの蛍光色調の差によりかなり適確に腫瘍組織の有無を確かめうる可能性を指摘した。一方、産婦人科領域においても藤森ら³⁾は子宮頸癌の診断に本法を用い、特殊な蛍光内視鏡(蛍光頸管鏡)を用いて多数の症例について検討を加え、かなり適確に悪性所見を見いだし好結果を得ている。また、胃の内視鏡にもこのような蛍光法を応用

して好成績をおさめたという加藤⁴⁾の報告もある。このさい、いずれの報告においてもとくに強調されたのは腫瘍組織と疑われる部分が周囲組織に比べて黄色の蛍光を帯びるという重要な知見であった。著者はこの点に注目し、紫外線膀胱鏡検査にさいしてみられる特異な蛍光の発する由来について若干の研究を試み、あわせて諸家の説⁵⁻¹²⁾をも比較検討し若干の知見を得たのでここに報告する。

研究材料および方法

1) AO 水溶液の濃度差による蛍光差について
AO の 100 万倍、10 万倍、1 万倍、4000 倍、2000 倍、1000 倍の水溶液を作製し、これを試験管にいれ、404～436 m μ の波長で励起しそれぞれの濃度における蛍光を観察し、濃度差による AO 蛍光の推移を観察した。

2) 生細胞と固定または障害された細胞とにおける AO 蛍光の差について
a) 子宮腔部より擦過により採取した扁平上皮細胞による観察。

子宮腔部は容易に細胞採取がおこなわれ新鮮な細胞、すなわち、生細胞が得られるのでこれを用いた。AO 生体染色を施行した正常の子宮腔部よりブラシをもって擦過細胞を採り、あらかじめ生理食塩水を滴下しておいたスライドガラス上に移し、無蛍光カバーグラスをおいて直ちに蛍光顕微鏡観察をおこなった。そのごその細胞を室温で2時間放置後ふたたび蛍光顕微鏡観察をおこない細胞の経時的変化を観察した。さらに炎症を伴う部位から擦過した正常扁平上皮細胞についても同様の観察をおこなった。また、子宮頸癌(浸潤癌)の病巣部より擦過した細胞についても観察をおこなった。

b) 白血球を対象とした生細胞と障害された細胞とにおける蛍光差についての観察。

肘静脈より採取した血液を白血球用メランジュールで 0.01% AO 水溶液で10倍に希釈してのち、その1滴をスライドガラス上に移し直ちに無蛍光カバーグラスをおいて蛍光顕微鏡観察をおこなった。そのご、血

液を室温に保存し白血球の運動性を指標としてそれが障害されたときの蛍光をも観察した。

3) AO 生体染色後の膀胱上皮よりの擦過細胞および組織切片の蛍光観察。

0.1% AO 水溶液 100 ml を膀胱内に注入し、30秒～5分後、洗浄液が完全に透明となるまで滅菌蒸留水でじゅうぶんに洗浄し、そのご紫外線膀胱鏡により蛍光の観察された部位よりそれぞれ擦過細胞と組織切片を採取した。

擦過細胞：

上述のごとく AO 生体染色を施した膀胱上皮より擦過細胞をとり、あらかじめ生理食塩水を滴下しておいたスライドガラス上に移し、無蛍光カバーガラスにおいて直ちに蛍光顕微鏡観察をおこなった。同時にエーテル・アルコール混合液で固定後、von Bertalanffy, Masin & Masin 法¹³⁾で染色後蛍光顕微鏡観察をおこない、生体染色によるものとの蛍光差について観察した。

組織切片：

上述のごとく AO により生体染色された膀胱上皮より組織切片を採取し直ちにドライアイスボックス内で急速に凍結し、そのごクリオスタットによって凍結切片を作製した。スライドガラスにおいた切片は急速に乾燥せしめそのまま無蛍光の流動パラフィンをもって封入し蛍光顕微鏡観察をおこなった。この切片は生体においてすでに AO によって染色されておりそのごの操作中固定されることはなく、あるいは AO 分子との新たな接触もないのでパラフィン封入後も生体において観察された蛍光がよく保存されている。

蛍光顕微鏡観察にはニコン蛍光顕微鏡装置を用い、BV 励起 (404~436 m μ , 青色光) を使用した。写真撮影にはエクタクローム ASA 160 およびアンスコ ASA 500 を使用した。撮影時間は検体により若干異なったが ASA 160 で約20~40秒、ASA 500 で約10秒前後であった。

研究結果

1) AO 水溶液の濃度差による蛍光差について

試験管に入れた AO 水溶液より発する蛍光はその濃度の希薄なものから濃度の高くなるにつれ淡緑色蛍光からだいに黄色蛍光を呈し、橙黄色蛍光をへて最高濃度のものでは赤色蛍光を呈するに至った。その結果を要約すると Table に示すごとくである。すなわち AO 分子は水溶液中においてその濃度に応じて緑色から黄色、橙色、赤色などの多彩な蛍光を発することが

Table

検体：AO水溶液	AO分子の発する蛍光
100万倍 (約 $3.7 \times 10^{-6} M$)	淡い緑色蛍光
10万倍 (約 $3.7 \times 10^{-5} M$)	緑色蛍光
1万倍 (約 $3.7 \times 10^{-4} M$)	黄色蛍光
4000倍 (約 $9.3 \times 10^{-4} M$)	黄橙色蛍光
2000倍 (約 $1.9 \times 10^{-3} M$)	黄色蛍光
1000倍 (約 $3.7 \times 10^{-3} M$)	強い赤色蛍光

わかった。山片¹²⁾によれば AO は $5 \times 10^{-5} M$ 以下の濃度にあつてはその分子は遊離状態を示し各分子は monomer として存在するという。しかし元来 AO 系色素はいずれも異環系の平面構造をもった分子で、分子間に van der Waals 引力が働きやすく濃度が増すにつれだいに dimer またはそれ以上の集合体を形成しやすい。

本研究の結果、蛍光が緑色から黄色、さらに赤色へと濃度が増すにつれ順次変化していくということがわかったが、この事実はすなわち、AO 分子が monomer 状態から dimer、さらには polymer の状態に移り変ってゆくときに発する蛍光の推移を示すものであるともいえる。

2) 生細胞と固定または障害された細胞における AO 蛍光の差について

a) 子宮腔部より擦過により採取した扁平上皮細胞による観察の結果

子宮腔部は生体において新鮮な擦過細胞が最も容易に採取される部位であるので本研究の対象とした。AO 生体染色下に採取された正常扁平上皮細胞の蛍光顕微鏡所見は核、細胞質ともに単一の緑色蛍光を呈している。核の緑色蛍光は一般に細胞質のそれに比し強い。つぎに室温に放置後蛍光顕微鏡で観察した細胞では核は一般に橙黄色の蛍光を発し、細胞質は赤色蛍光が著明となる。その所見は細胞を15分間エーテル・アルコール混合液で固定後 von Bertalanffy, Masin & Masin 法¹³⁾で染色した場合の所見とほぼ同様であるが、変性の程度に応じて細胞質の一部に緑色蛍光がみられることがある。炎症を伴う症例から得た AO 生体染色後の擦過細胞の蛍光所見も固定標本のそれと同様であった。浸潤を示す子宮頸癌ではしばしば感染による炎症や変性などがみられるが、これらの場合 AO 生体染色後の擦過細胞の蛍光所見でも、上述のごとき固定標本にみられるがごとき所見、すなわち、核の黄色、細胞質の赤色蛍光が著明となる。この場合、核は増大しているのどくにその黄色蛍光が強調されてみられることが多い。

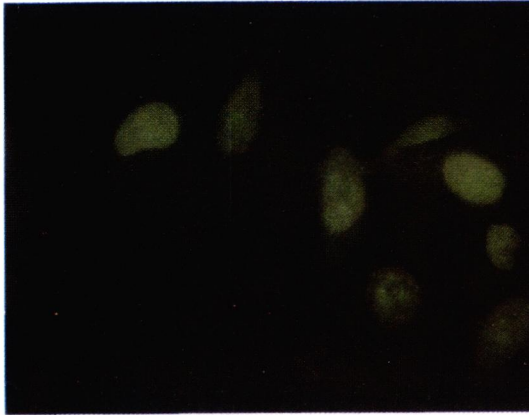


Photo. 1

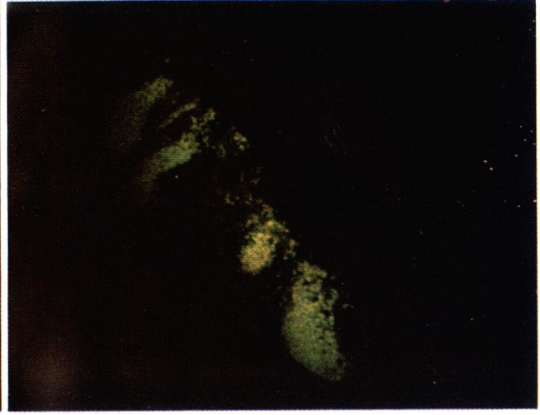


Photo. 2

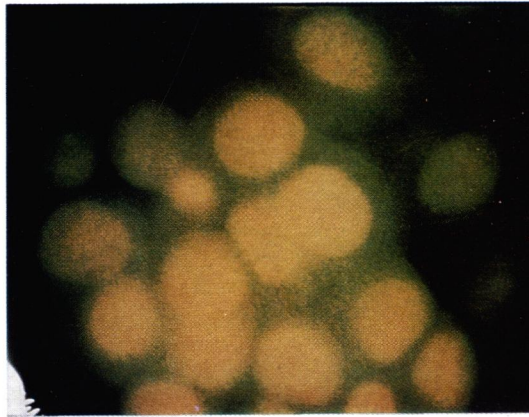


Photo. 3

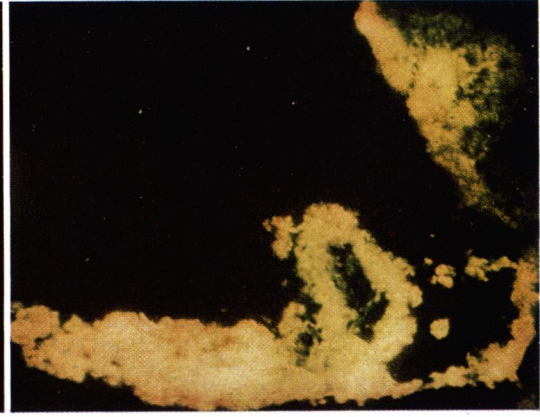


Photo. 4

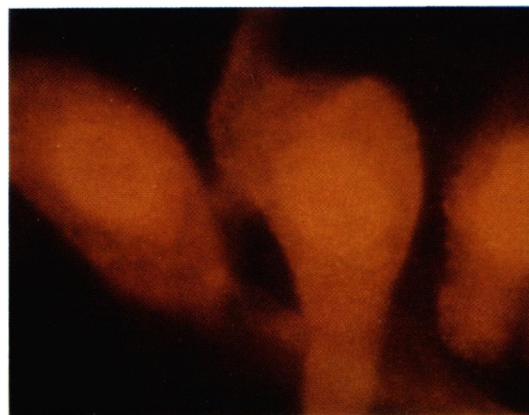


Photo. 5

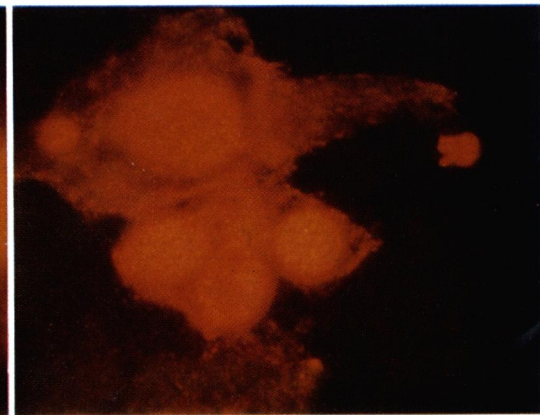


Photo. 6

Photo. 1 の説明：

papilloma of the bladder の AO 生体染色後の無固定擦過細胞の蛍光顕微鏡所見。(×1000)

核、細胞質ともに主として緑色の蛍光を発するが、核は細胞質に比べてやや黄色のつよい蛍光を発し、円形、楕円形で大きさはだいたい均等である。核内にクロマチンの増量に対応して蛍光の色調差を示すものもみられる。細胞質はかなり明瞭でその形は種々であるが細長い形や円柱状を呈するものもある。

Photo. 2 の説明：

Photo. 1 と同一症例の AO 生体染色後の無固定、凍結切片の蛍光顕微鏡所見。(×100)

細胞の異常増殖が軽度ながらみとめられるが、上皮の構造は保たれている。この場合個々の細胞の細胞質より発する弱緑色蛍光と核より発する緑黄色蛍光とが混じり組織レベルでは全体として緑黄色の蛍光として観察されている。

Photo. 3 の説明：

differentiated transitional cell carcinoma of the bladder の AO 生体染色後の無固定擦過細胞の蛍光顕微鏡所見。(×1000)

Photo. 1 と比べ細胞の NC 比は増大し、核の黄色蛍光がいっそう著明となる。一般に円形の核が多くまた細胞質の量はすくない。

Photo. 4 の説明：

Photo. 3 と同一症例の AO 生体染色後の無固定、凍結切片の蛍光顕微鏡所見。(×100)

上皮全層におよぶ黄色蛍光が著明である。この場合個々の癌細胞の核から発する黄色蛍光が強調されて組織レベルでは全体として黄色の蛍光として観察されることがうかがわれる。

Photo. 5 の説明：

papilliferous carcinoma of the bladder の AO 生体染色後の無固定擦過細胞の蛍光顕微鏡所見。(×1000)

円柱状の細胞質は赤色の蛍光を、増大した核は橙黄色の蛍光を発する。これらの癌細胞が集合して組織レベルで紫外線膀胱鏡で観察される時黄色～橙黄色～赤色の metachromatic fluorescence が観察されることになる。

Photo. 6 の説明：

Photo. 5 と同一症例の癌浸潤がつよく壊死におちいった部分からの擦過細胞の蛍光顕微鏡所見。(×1000)

変性、障害された癌細胞の核、細胞質ともに赤色～橙赤色の蛍光を発している。

b) 白血球を対象とした生細胞と障害された細胞とにおける蛍光差についての観察結果。

採血直後の血液の蛍光顕微鏡所見では主として白血球の核が緑色または淡黄色を呈し、細胞質は緑色、一部に赤色を呈するものがあるが室温に放置し運動性のなくなった時点での蛍光所見は核、細胞質ともに赤色蛍光を呈するに至った。

以上 a), b) の研究結果より AO により生体染色された細胞は新鮮な状態では核が強い緑色を、細胞質が弱緑色を呈するが、炎症などにより変性、障害されたものでは核の橙黄色蛍光、細胞質の赤色蛍光が著明となることが明らかにされた。藤森ら¹⁴⁾はエールリッヒ腹水癌細胞に AO 超生体染色をおこない染色性の差が移植能力に比例することを報告し、変性細胞の AO 染色性が固定細胞のそれと一致するのに対し、生細胞では固定標本にみられるがごとき多染色性を示さないことを明らかにしている。また炎症変化を受けた(例えばトリコモナス感染症など)子宮腔部上皮細胞の治療効果を AO 生体染色によって追求し、治療によって細胞の染色性が変化していくことをも示したが、今回われわれは、たとえ新鮮な細胞であっても浸潤癌などでは増大した核に由来する黄色蛍光の増加と部分的に存在する炎症、変性などのために生ずる細胞質の赤色蛍光などが入りまじって多彩な染色性を示すことを認めた。

3) AO 生体染色後の膀胱上皮よりの擦過細胞および組織切片の蛍光観察結果

a) 正常所見

正常膀胱上皮の紫外線膀胱鏡所見は淡い緑色蛍光をみるのみでこれより得た擦過細胞は、核、細胞質とも淡緑色の蛍光を呈しているかまたは細胞質は無蛍光である場合もあった。一般的に核の緑色蛍光は細胞質のそれよりも強い。また、上皮に異形成がおこると、核は細胞質に比べてやや黄色のつよい蛍光を発し、円形、楕円形のもがみられる(Photo. 1)。正常組織の AO 生体染色後の無固定凍結切片においても上皮は生体染色によってほぼ全層が染色され緑色の蛍光を発していることがわかった(Photo. 2)。しかし炎症の存する上皮から擦過して得た細胞をみると核は橙黄色を呈し、細胞質は鮮明な赤色蛍光を示しておりその所見はあたかも剝離細胞の超生体染色あるいは固定染色標本を観察しているかのごとくであった。その部分から得られた凍結切片においても上皮全層におよぶ赤色蛍光が観察された。

b) 悪性所見

浸潤のほとんどみとめられない移行上皮癌(transi-

tional cell carcinoma) と診断された症例で紫外線膀胱鏡により緑黄色蛍光を呈した部分より擦過細胞を採取、同時にその部の組織切片も採取した。細胞所見では細胞質は一般に淡緑黄色蛍光を呈し、核はややつよい緑黄色蛍光を呈した。しかし一般に核は正常のものより大きいので細胞全体としては黄色蛍光が強調されてみえた (Photo. 3)。凍結組織切片においても上皮全層に強い黄色の蛍光を 発しているのが観察された (Photo. 4)。浸潤がすすみ感染による炎症、変性などが伴ってくると同じ AO 生体染色後の悪性細胞でも核は橙黄蛍光がつよく細胞質は赤色から橙赤色の蛍光を呈してくる (Photo. 5)。このような症例では紫外線膀胱鏡所見は橙黄色を呈することが多く初期癌の緑黄色と区別しうることがある。浸潤がひどく壊死を伴うような場合には、細胞質、核ともに赤変することも観察された (Photo. 6)。固定標本によるものの蛍光所見は研究 2) において観察された結果と全く同様であった。

以上の研究結果より、正常細胞では AO の生体染色

により核、細胞質ともに単一の緑色蛍光を発することや、またその集合体である凍結切片においてもそれらの緑色蛍光が観察されることから、紫外線膀胱鏡で正常所見が緑色蛍光として観察されることが了解された。

また、炎症の場合は、個々の細胞の細胞質の赤色蛍光が強調され、凍結切片および紫外線膀胱鏡所見では赤色蛍光が著明となることも了解されよう。

悪性所見では浸潤の開始していない初期のものではそれから採取された個々の細胞の核、細胞質とも、著明な黄色蛍光は発しないが、それらが集合した組織レベルでの観察では悪性細胞の特徴のひとつであるいわゆる NC 比 (核細胞質比) の増大にもなって核の緑黄色が強調され、これが紫外線膀胱鏡で観察されるとき全体として緑黄色の蛍光が目だつことがわかった。また、既述のごとく浸潤のみとめられる例では橙黄色蛍光がみられることの原因についても判明した。このような AO の生体に対する多染色性の発現由来についての推察をシェーマであらわすと Fig. 1 のごとくと

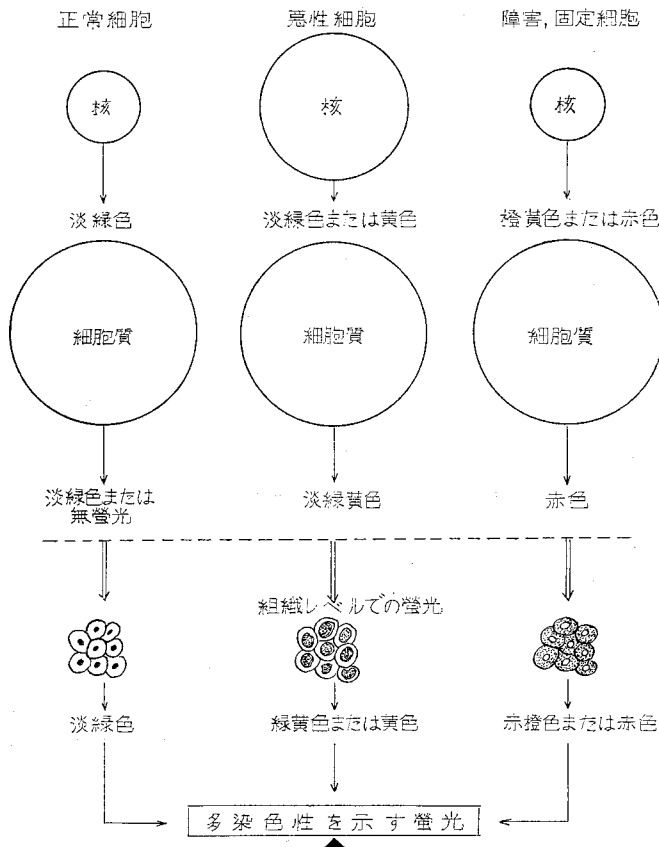


Fig. 1

なる。

総括ならびに考按

AO が水溶液中において分子の重合を起こし、濃度差に応じて多彩な染色性を示すことがわれわれの研究結果からもうかがわれたが、Strugger¹⁵⁾はこの濃度差による蛍光の変化を濃度効果なる表現を用いてあらわし、生細胞ではわずかの AO 分子しか細胞内にはいらぬのに対し、障害または固定された細胞ではより多くの AO 分子がいるため、この濃度効果があらわれて、われわれの研究でも観察されたような多染色性がみられると説明した。一方、Armstrong¹⁶⁾、von Bertalanffy ら¹⁷⁾は固定された細胞に AO 分子を投与し蛍光をさせしめ、これに酵素処理を施して核の黄色蛍光および細胞質、核小体などの赤色蛍光がそれぞれの DNA, RNA に由来することを証明し AO 分子と核酸との結びつきを立証した。さらに Beers ら^{6,7)}は核酸と AO 分子との結合を分光学的に研究し、AO 分子がプリンあるいはピリミジン塩基と結合した場合、リン酸基と結合した場合とで発色が異なるという一つのモデルを提唱した。一方、Bradley & Wolf¹¹⁾は種々の polyanion と AO 分子との結合について広範な生化学的研究をおこない、AO 分子が polyanion に対して monomer となる場合、dimer となる場合、polymer となる場合それぞれ異なったスペクトルを有することを示し aggregation metachromasia という概念を蛍光発色の機構解明に導入した。

Scherif¹⁸⁾はこの概念を modify して Fig. 2 のとき schemes を提唱し、正常細胞では monomer 結合による緑色蛍光が、悪性細胞では dimer 結合による黄色蛍光が、さらに変性、障害されたものでは polymer による赤色蛍光がみられると主張した。一方、山片¹²⁾は遊離核酸および細胞内核酸と AO 分子との相互

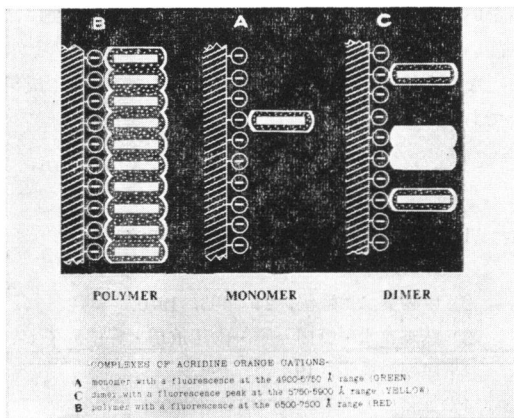
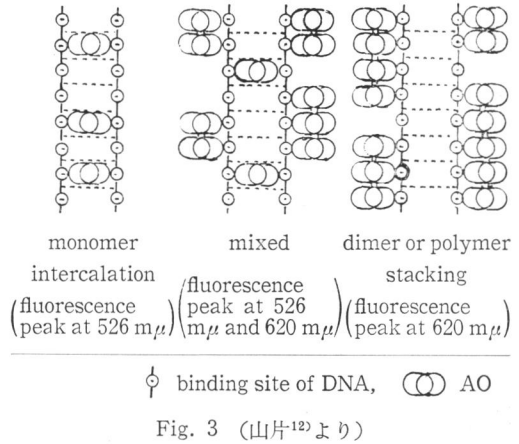
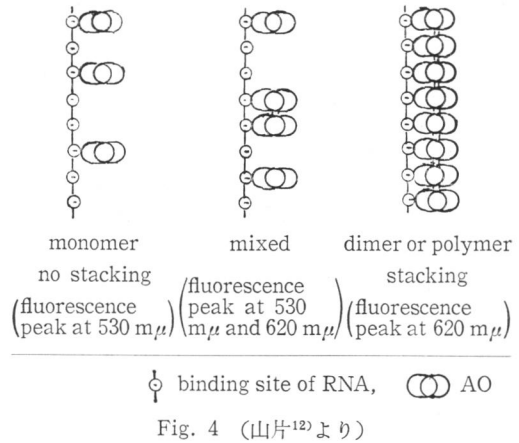


Fig. 2 (Sherif¹⁸⁾ より)

Schematic configurations of the binding of AO to DNA.



Schematic configurations of the bending of AO to RNA.



作用について研究し、Fig. 3, 4 に示すような結果を得た。すなわち、AO 分子が解離状態にある低濃度溶液中では AO 分子は DNA と結合して 502 mμ に極大吸収を示し、526 mμ にピークを有する緑色蛍光を発する。いずれも monomer 結合であり両者の相違は核酸の 2 次構造の差異に由来する。AO 分子が強い会合状態にある高濃度溶液中では AO は DNA, RNA 両者に dimer 結合し 620 mμ にピークを有する赤色蛍光を発する。

この中間の狭い濃度範囲にあっては AO 分子は DNA に対して monomer 結合 (intercalation) を、RNA に対しては dimer 結合 (stacking) を形成しやすい傾向があることを示し、① AO 分子が DNA, RNA と結合して異なる蛍光を発するという単純な表現の不正確なること、② 核酸と AO 分子との結合が核酸上の結

合サイトと AO 分子との数量的関係から成立するという考え方の誤りとを明らかにし、両者の結合様式の決定には核酸の立体構造の差異とともに AO 水溶液の濃度が重要な因子となることを示した。

われわれはこれらの研究結果を参考とし、まず AO 水溶液が濃度差によって異なる蛍光を発することを示し、ついで障害されない生細胞ではそれが正常細胞の場合緑色を中心とした蛍光をみとめ、悪性細胞では NC 比の増大に伴って核の緑黄色が強調され細胞質の緑色蛍光を消光し、細胞集団すなわち組織レベルで観察するときは黄色調の蛍光が中心となって観察されることを示した。いっぽう障害、変性されたものでは細胞質の赤色蛍光が強調され核の蛍光は消光されて上皮全体として赤色蛍光が目だつことも示した。これは細胞が正常の状態では AO を容易にはとりこまず、細胞内の AO の濃度が希薄で、AO 分子が DNA, RNA と monomer を主とする結合を生じ細胞全体として緑色蛍光を発するものと推察され、細胞が障害、変性すると AO が容易に細胞内に侵入しうようになり、細胞内における AO 濃度が高濃度となって DNA, RNA 両者に dimer, または polymer として結合、細胞全体として赤色蛍光を発するものと考えられる。また悪性の変化が細胞内に生じると細胞の AO とりこみに対する barrier がくずれ、AO 分子が monomer, dimer となって細胞内の DNA, RNA などに混合された状態(山片¹²⁾, Fig. 3, 4 参照)で結合し、山片¹²⁾も唱えるごとく dimer による赤色調と monomer による緑色調がまじり、両波長の存在が顕微鏡による分解能をこえて混合合成され黄色調として認識されるものと考えた。

結 語

AO 水溶液による膀胱上皮の生体染色後の紫外線膀胱鏡検査にさいして観察される多彩な蛍光について、その発色由来を解明しその診断的価値を検討するため若干の研究をおこない、諸家の報告をもあわせて検討し以下のごとき結果を得た。

1) 正常膀胱上皮では紫外線膀胱鏡により主として緑色蛍光がみられるが、これは個々の細胞での AO のとりこみがすくなく、細胞内の DNA, RNA に AO 分子が monomer で結合し緑色蛍光を発するためと考えられる。

2) 炎症などの存在により紫外線膀胱鏡で膀胱上皮が赤色蛍光を発するのは、個々の細胞が

炎症によって障害、変性をきたし AO を容易に細胞内にとりこむため細胞内の DNA, RNA に AO 分子が dimer または polymer で結合しやすくなり、とくに細胞質内の RNA に由来する赤色蛍光が著明となるためであると考えられる。

3) 浸潤のほとんどみられない初期の癌では、紫外線膀胱鏡により輝度の強い緑黄色の蛍光が観察されるが、これは悪性の変化が細胞に生じると細胞自身の AO とりこみに対するある種の barrier がくずれ、AO 分子が monomer, dimer となって細胞内の DNA, RNA などに混合された状態で結合し、dimer による赤色調と monomer による緑色調がまじりあい、両波長の存在が顕微鏡による分解能をこえて混合合成され、これが黄色調として認識され、とくに核におけるこの蛍光が核の悪性増大にともなって強調されるためと考えられる。さらに初期の癌の場合にはまだ癌の侵襲をうけていない正常組織からの緑色蛍光もこれに混じり全体として緑黄色蛍光が観察されるようになるものと推察される。

4) 浸潤のすすんだ癌では壊死などにもなって感染もおこりやすく、いわゆる炎症による細胞質の赤色蛍光が著明となりこれとともに悪性変化のため増大した核から発する黄色蛍光とがまじりあって全体として黄色～橙黄色の蛍光が紫外線膀胱鏡によって観察されるものと考えられる。

終りにのぞみ、膀胱上皮の細胞診につき種々ご助言をいただいた大阪府立成人病センター松田実医長に深謝いたします。

なお本論文は厚生省癌研究助成金による研究の成果である。

参 考 文 献

- 1) Melamed, M. R. et al.: *Cancer*, 13: 67, 1960.
- 2) 伊藤秦二: *臨泌*, 24: 503, 1970.
- 3) 藤森速水・野田 定・山片重房・野田孝子: *産婦の進歩*, 19: 71, 1967.
- 4) 加藤 晃: *Gastroenterological Endoscopy*, 12: 351, 1970.

- 5) Peacocke, A. R. & Skerret, J. N. H. : Trans Faraday Soc., **261** : 279, 1956.
- 6) Beers, R. F. Jr. et al. : Nature, **182** : 242, 1958.
- 7) Beers, R. F. Jr. : J. Biol. Chem., **235** : 726, 1960.
- 8) Steiner, R. F. & Beers, R. F. : Science, **127** : 335, 1957.
- 9) Steiner, R. F. & Beers, R. F. : Arch. Biochem. Biophys., **81** : 75, 1959.
- 10) Lerman, L. S. : J. Mol. Biol., **3** : 18, 1961.
- 11) Bradley, D. F. & Wolf, M. K. : Proc. Nat. Acad. Sci. U. S., **45** : 944, 1959.
- 12) 山片重房 : 阪市大医誌, **19** : 217, 1970.
- 13) von Bertalanffy, L., Masin, M. & Masin, F. : Science, **124** : 1024, 1956.
- 14) 藤森速水・ほか : 日臨細胞学会誌, **6** : 82, 1967.
- 15) Strugger, S. : Fluorezenzmikroskopie und Mikrobiologie. M. & H. Schaper, Hanover, 1949.
- 16) Armstrong, J. A. : Exp. Cell Res., **11** : 640, 1956.
- 17) Bertalanffy, L. von & Bickis, I. : J. Histochem. Cytochem., **4** : 481, 1956.
- 18) Sherif, M. : Introduction to A New Cancer Test. Interprint Grafiska AB, Stockholm, 1966.

(1972年4月5日受付)