

膀胱癌における Flow cytometry による DNA 分析の診断的価値

—細胞診との比較検討—

大阪医科大学泌尿器科 (主任: 宮崎 重教授)

川 崎 利 博*

THE DIAGNOSTIC VALUE OF FLOW CYTOMETRIC DNA ANALYSIS IN BLADDER CANCER

—COMPARISON WITH CONVENTIONAL CYTOLOGY—

Toshihiro Kawasaki

From the Department of Urology, Osaka Medical School

The aim of this research was to assess the clinical value of flow cytometry (FCM) compared with conventional cytology in the detection and diagnosis of bladder cancer. The practical application of FCM combined with cytology was also investigated.

Seventy patients with bladder cancer and 50 without neoplastic disease of the urinary tract were studied. The exfoliated cells used for FCM-DNA analysis and cytology by the Papanicolaou technique were obtained from voided urine and subsequent bladder irrigation specimens.

The false negative rates for urine cytology, irrigation cytology, urine FCM, and irrigation FCM were 36%, 38%, 14% and 13%, respectively. Corresponding false positive rates were 2%, 0%, 14%, and 18%. When the above-mentioned examinations were paired, the combination of urine cytology and urine FCM appeared to be the most acceptable way to secure a correct diagnosis. Using this combination, the false negative and false positive rates were 4%, and 16%, respectively. When three or four examinations were combined, the false negative rate could not be improved despite the fact that the false positive rate worsened. It is noteworthy that FCM-DNA analysis seems to be less reliable in patients who have inflammatory diseases of the urinary tract or a history of intravesical chemotherapy.

(Acta Urol. Jpn. 37: 1481-1489, 1991)

Key words: Bladder cancer, Flow cytometry, Cytology

緒 言

本邦における膀胱癌の発生率は人口10万人あたり男性5.1~7.9人、女性1.5~2.1人¹⁾で、泌尿器科領域における悪性腫瘍の中ではもっとも頻度が高く、近年、人口の高齢化に伴って膀胱癌患者の数も年々増加している。また、膀胱癌による年間死亡数も1972年から1984年の12年間で、男性では1,177人から1,669人へと約1.4倍、女性では621人から772人へと約1.2倍に増加している²⁾。

一方、細胞内の核 DNA を分析することにより、癌の診断、悪性度の判定に役立てようとする試みは、

1970年代の前半に Flow cytometry (FCM) が一般に利用できるようになって以来、臨床の各分野で盛んに行われるようになった。膀胱癌に関しては、新鮮標本やパラフィン包埋標本を検体として、腫瘍細胞の核 DNA を FCM を用いて分析 (FCM-DNA 分析) し、その成績と腫瘍の組織学的異型度や予後との関連から、膀胱癌の生物学的悪性度を判定しようとする研究が多数報告されている。また、尿中あるいは膀胱洗浄液中の剝離細胞の FCM-DNA 分析を行い、膀胱癌の補助診断としての有用性を検討する研究も行われているが、自然尿および膀胱洗浄液のそれぞれについて、従来から行われている細胞診と FCM-DNA 分析の成績とを比較検討した研究は少ない。

そこで、今回、自然尿および膀胱洗浄液を検体とし

* 現: 高槻赤十字病院泌尿器科

て剥離細胞の FCM-DNA 分析を行い、その結果と尿細胞診および膀胱洗浄液細胞診の成績とを比較し、検体と検査をどのように組合せれば、膀胱癌のスクリーニングテストとして最もよい成績が得られるかについて検討した。

対象および方法

1987年6月から1990年10月までの3年5カ月間に、大阪医科大学泌尿器科およびその関連施設において、内視鏡および病理組織学的に膀胱移行上皮癌であることが確認された70名の患者を膀胱腫瘍群とし、尿路結石症、前立腺肥大症などの泌尿器科的良性疾患を有する患者のうち無作為に選んだ50名を対照群とした。膀胱腫瘍患者の年齢、性別、腫瘍の病理診断および尿路感染の有無を Table 1 に示した。また、対照患者の年齢、性別、疾患の内訳および尿路感染の有無については Table 2 に示した。

患者の自排尿を採取したのち、尿道からカテーテルを挿入して、あるいは膀胱鏡検査施行時に4~5回生理食塩水で膀胱内を洗浄し、約200mlの膀胱洗浄液を採取した。これらの尿および膀胱洗浄液は採取後ただちに冷所保存し、二分して一方は細胞診、他方は Flow cytometry (FCM) のための材料とした。すなわち、尿細胞診、膀胱洗浄液細胞診、尿 FCM および膀胱洗浄液 FCM の4種類の検査を施行した。

細胞診については、約50mlの尿または膀胱洗浄液を用いて従来の方法で Papanicolaou 染色を行い、class I・II を negative, class III を suspicious, class IV・V を positive と判定した³⁾。FCM については、約150mlの尿または膀胱洗浄液を検体とし、検体採取後6時間以内に下記の方法で剥離細胞の核 DNA 染色を行った⁴⁾。

前処置として FCM 用検体に10分の1量の0.1 M-Tris-EDTA buffer を添加し、4°C にて1,500回転10分間の遠沈を行った。この沈殿細胞を phosphate buffer solution にて2回洗浄したのち、Windelqvist の one step method に準じて propidium iodide により核の DNA 染色を行い⁵⁾、CS-20 型 Cell Sorter (昭和電工)を用いて剥離細胞の核 DNA 分析を行った。FCM 分析の判定は Klein らの診断基準に従って、明らかな aneuploid cell population を示す peak (aneuploid peak) が存在する場合、あるいは明らかな tetraploid cell population を示す peak (tetraploid peak) が存在し、かつ2倍体より DNA 量の多い細胞 (hyperdiploid cell) の占める割合が15%以上の場合を positive, tetraploid peak が存在し、かつ

Table 1. 膀胱腫瘍患者の背景 (n=70)

年齢: 39歳~88歳 (平均 66.8歳)	
性別: 男性 60名、女性 10名	
腫瘍の病理診断: 異型度	症例数 (%)
G1	11 (16)
G2	37 (53)
G3	22 (31)
	70 (100)
深達度	症例数 (%)
pTis	2 (3)
pT1以下	41 (60)
pT2	8 (11)
pT3	8 (11)
pT4	1 (1)
pT~	10 (14)
	70 (100)
尿路感染の有無: 炎症性尿所見	症例数 (%)
-	24 (34)
±	22 (32)
+	24 (34)
	70 (100)

* (-): 尿沈渣で WBC 数 0~4 個/F
(±): WBC 数 5~9 個/F
(+): WBC 数 10 個~ /F

Table 2. 対照患者の背景 (n=50)

年齢: 18歳~74歳 (平均 47.7歳)	
性別: 男性 32名、女性 18名	
疾患の内訳: 尿路結石症	34名 (68%)
前立腺肥大症	6名 (12%)
膀胱炎	4名 (8%)
子宮腫瘍**	5名 (10%)
直腸腫瘍**	1名 (2%)
	50名 (100%)
尿路感染の有無: 炎症性尿所見	症例数 (%)
	30 (60)
±	4 (8)
+	16 (32)
	50 (100)

* (-): 尿沈渣で WBC 数 0~4 個/F
(±): WBC 数 5~9 個/F
(+): WBC 数 10 個~ /F

** 膀胱に浸潤のみられないもの

hyperdiploid cell の占める割合が10~15%の場合、あるいは aneuploid peak が認められず hyperdiploid cell の占める割合が10%以上の場合を suspicious, aneuploid peak が認められず hyperdiploid cell の占める割合が10%以下の場合を negative と判定した⁶⁾。

尿細胞診, 膀胱洗浄液細胞診, 尿 FCM および膀胱洗浄液 FCM の 4 検査のうち, 1 検査のみを用いた場合, 2 検査を併用した場合, 3 検査を併用した場合あるいは 4 検査すべてを用いた場合について, それぞれの false negative rate および false positive rate を比較検討した. なお, 統計学的な有意差の検定には X^2 テストを用いた.

結 果

1. 膀胱癌のスクリーニングテストとして 1 検査だけを用いた場合

膀胱腫瘍群 70 例から得られた尿細胞診, 膀胱洗浄液細胞診, 尿 FCM および膀胱洗浄液 FCM のそれぞれの成績を Table 3 に示した. 尿細胞診では 54% (38 例) が positive, 10% (7 例) が suspicious, 36% (25 例) が false negative であった. 膀胱洗浄液細胞診では 56% (39 例) が positive, 6% (4 例) が suspicious, 38% (27 例) が false negative であった. 尿 FCM では 64% (45 例) が positive, 19% (13 例) が suspicious, 17% (12 例) が false negative であった. 膀胱洗浄液 FCM では 63% (44 例) が positive, 21% (15 例) が suspicious, 16% (11 例) が false

negative であった.

Table 4 は対照群 50 例についての成績である. 尿細胞診, 膀胱洗浄液細胞診, 尿 FCM および膀胱洗浄液 FCM の false positive rate は, それぞれ 2% (1 例), 0% (0 例), 16% (8 例) および 18% (9 例) であった.

2. 膀胱癌のスクリーニングテストとして 2 検査を併用した場合

膀胱腫瘍群 70 例について尿細胞診と膀胱洗浄液細胞診とを併用した場合の成績を Table 5 に示した. 尿細胞診では Table 5-A の右端の欄に示したように, 38 例が positive, 7 例が suspicious, 25 例が false negative で, Table 3 に示したものと同じである. また, 膀胱洗浄液細胞診では下段に示したように, 39 例が positive, 4 例が suspicious, 27 例が false negative で, これも Table 3 に示したものと同じである. 中央の欄に両者の内訳を示したが, 尿細胞診および膀胱洗浄液細胞診ともに positive であったものは 31 例, いずれか一方が positive であったものは 15 例, 両者とも suspicious であったものは 2 例, 両者とも negative であったものは 21 例, 一方が negative で他方が suspicious であったものが 1 例であった. 今

Table 3. 膀胱腫瘍群 (n=70) における 1 検査だけのスクリーニングテストの成績

スクリーニングテスト	positive	suspicious	false negative	total
尿細胞診	54 (38)*	10 (7)	36 (25)	100 (70)
膀胱洗浄液細胞診	56 (39)	6 (4)	38 (27)	100 (70)
尿 FCM	64 (45)	19 (13)	17 (12)	100 (70)
膀胱洗浄液 FCM	63 (44)	21 (15)	16 (11)	100 (70)

* % (例数)

Table 4. 対照群 (n=50) における 1 検査だけのスクリーニングテストの成績

スクリーニングテスト	negative	suspicious	false positive	total
尿細胞診	96 (48)*	2 (1)	2 (1)	100 (50)
膀胱洗浄液細胞診	100 (50)	0 (0)	0 (0)	100 (50)
尿 FCM	44 (22)	40 (20)	16 (8)	100 (50)
膀胱洗浄液 FCM	44 (22)	38 (19)	18 (9)	100 (50)

* % (例数)

Table 5. 膀胱腫瘍群 (n=70) における尿細胞診と膀胱洗浄液細胞診を併用したスクリーニングテストの成績

5 - A

		膀胱洗浄液細胞診			
		+	±	-	total
尿細胞診	+	31	2	5	38
	±	4	2	1	7
	-	4	0	21	25
	total	39	4	27	70

positive
 false negative

5 - B

positive	suspicious	false negative	total
69 (48)*	1 (1)	30 (21)	100 (70)

* % (例数)

回の検討では、膀胱癌のスクリーニングテストとして2検査を併用する場合の判定基準として、Table 5-Aの実線で囲まれた部分を positive、破線の内側で囲まれた部分を false negative、その他の部分を suspicious とした。すなわち、両検査とも positive のもの、いずれか一方が positive か、あるいは両者とも suspicious のものを positive、2検査とも negative のものを false negative、一方が suspicious で他方が negative のものを suspicious とした。この判定基準に従うと、尿細胞診と膀胱洗浄液細胞診とを併用した場合、膀胱腫瘍群の成績は Table 5-B に示すごと

く、69% (48例) が positive、1% (1例) が suspicious、30例 (21%) が false negative であった。以下同様にして、2検査を併用した場合のそれぞれの成績を Table 6 に示した。尿細胞診と尿 FCM との併用では、89% (62%) が positive、7% (5例) が suspicious、4% (3例) が false negative であった。尿細胞診と膀胱洗浄液 FCM との併用では、86% (60例) が positive、11% (8例) が suspicious、3% (2例) が false negative であった。膀胱洗浄液細胞診と尿 FCM との併用では、83% (58例) が positive、13% (9例) が suspicious、4% (3例) が false negative であった。膀胱洗浄液細胞診と膀胱洗浄液 FCM との併用では、86% (60例) が positive、10% (7例) が suspicious、4% (3例) が false negative であった。膀胱洗浄液 FCM と尿 FCM との併用では87% (61例) が positive、7% (5例) が suspicious、6% (4例) が false negative であった。

対照群50例について、2検査を併用した場合のそれぞれの成績を Table 7 に示したが、false positive rate は尿細胞診と膀胱洗浄液細胞診との併用では2% (1例)、尿細胞診と尿 FCM との併用では16% (8例)、尿細胞診と膀胱洗浄液 FCM との併用では22% (11例)、膀胱洗浄液細胞診と尿 FCM との併用では16% (8例)、膀胱洗浄液細胞診と膀胱洗浄液 FCM との併用では18% (9例)、膀胱洗浄液 FCM と尿 FCM との併用では46% (23例) であった。

3. 膀胱癌のスクリーニングテストとして3検査を併用した場合

膀胱腫瘍群70例について3検査を併用した場合の成績を Table 8 に示した。2検査併用の場合に準じて3検査を併用した場合の判定基準を設定した。すなわち、1検査以上が positive のものおよび2検査以上が suspicious のものを positive、1検査が suspicious

Table 6. 膀胱腫瘍群 (n=70) における2検査併用のスクリーニングテストの成績

スクリーニングテスト		positive	suspicious	false negative	total
尿細胞診	+ 膀胱洗浄液細胞診	69 (48)*	1 (1)	30 (21)	100 (70)
尿細胞診	+ 尿 FCM	89 (62)	7 (5)	4 (3)	100 (70)
尿細胞診	+ 膀胱洗浄液 FCM	86 (60)	11 (8)	3 (2)	100 (70)
膀胱洗浄液細胞診	+ 尿 FCM	83 (58)	13 (9)	4 (3)	100 (70)
膀胱洗浄液細胞診	+ 膀胱洗浄液 FCM	86 (60)	10 (7)	4 (3)	100 (70)
膀胱洗浄液 FCM	+ 尿 FCM	87 (61)	7 (5)	6 (4)	100 (70)

* % (例数)

Table 7. 対照群 (n=50) における 2 検査併用のスクリーニングテストの成績

スクリーニングテスト		negative	suspicious	false positive	total
尿細胞診	+ 膀胱洗浄液細胞診	96 (48)*	2 (1)	2 (1)	100 (50)
尿細胞診	+ 尿 FCM	44 (22)	40 (20)	16 (8)	100 (50)
尿細胞診	+ 膀胱洗浄液 FCM	44 (22)	34 (17)	22 (11)	100 (50)
膀胱洗浄液細胞診	+ 尿 FCM	44 (22)	40 (20)	16 (8)	100 (50)
膀胱洗浄液細胞診	+ 膀胱洗浄液 FCM	44 (22)	38 (19)	18 (9)	100 (50)
膀胱洗浄液 FCM	+ 尿 FCM	24 (12)	30 (15)	46 (23)	100 (50)

* % (例数)

Table 8. 膀胱腫瘍群 (n=70) における 3 検査併用のスクリーニングテストの成績

スクリーニングテスト		positive	suspicious	false negative	total
尿細胞診	+ 膀胱洗浄液細胞診 + 尿 FCM	92 (64)*	4 (3)	4 (3)	100 (70)
尿細胞診	+ 膀胱洗浄液細胞診 + 膀胱洗浄液 FCM	89 (62)	8 (6)	3 (2)	100 (70)
尿細胞診	+ 尿 FCM + 膀胱洗浄液 FCM	98 (68)	1 (1)	1 (1)	100 (70)
膀胱洗浄液細胞診	+ 尿 FCM + 膀胱洗浄液 FCM	96 (67)	3 (2)	1 (1)	100 (70)

* % (例数)

Table 9. 対照群 (n=50) における 3 検査併用のスクリーニングテストの成績

スクリーニングテスト		negative	suspicious	false positive	total
尿細胞診	+ 膀胱洗浄液細胞診 + 尿 FCM	44 (22)*	42 (21)	16 (8)	100 (50)
尿細胞診	+ 膀胱洗浄液細胞診 + 膀胱洗浄液 FCM	44 (22)	34 (17)	22 (11)	100 (50)
尿細胞診	+ 尿 FCM + 膀胱洗浄液 FCM	24 (12)	30 (15)	46 (23)	100 (50)
膀胱洗浄液細胞診	+ 尿 FCM + 膀胱洗浄液 FCM	24 (12)	30 (15)	46 (23)	100 (50)

* % (例数)

で他の 2 検査が negative のものを suspicious, 3 検査とも negative のものを false negative と判定した。この判定基準に従えば, 尿細胞診, 膀胱洗浄液細胞診および尿 FCM の 3 検査を併用した場合には, 92% (64 例) が positive で, suspicious および false negative はそれぞれ 4% (3 例) であった。同様にして, 尿細胞診,

膀胱洗浄液細胞診および膀胱洗浄液 FCM の 3 検査を併用した場合には, 89% (62 例) が positive, 8% (6 例) が suspicious, 3% (2 例) が false negative であった。尿細胞診, 尿 FCM および膀胱洗浄液 FCM の 3 検査を併用した場合には, 98% (68 例) が positive で, suspicious および false nega-

Table 10. 膀胱癌のスクリーニングテストの False Negative Rate と False Positive Rate

尿細胞診	○				○	○	○				○	○	○		○
膀胱洗浄液細胞診		○				○			○	○			○	○	○
尿FCM			○			○		○		○		○	○	○	○
膀胱洗浄液FCM				○			○		○	○			○	○	○
False Negative Rate(%)	36	38	17	16	30	4	3	4	4	6	4	3	1	1	1
False Positive Rate(%)	2	0	16	18	2	16	22	16	18	46	16	22	46	46	46

tive はそれぞれ1% (1例)であった。膀胱洗浄液細胞診, 尿 FCM および膀胱洗浄液 FCM の3検査を併用した場合には, 96% (67例)が positive で, 3% (2例)が suspicious, 1% (1例)が false negative であった。

Table 9 は対照群50例について, 3検査を併用した場合の成績を示したものである。false positive rate についてみると, 尿細胞診, 膀胱洗浄液細胞診, 尿 FCM の3検査併用の場合には16% (8例), 尿細胞診, 膀胱洗浄液細胞診, 膀胱洗浄液 FCM の3検査併用の場合には22% (11例), 尿細胞診, 尿 FCM, 膀胱洗浄液 FCM の3検査併用の場合と膀胱洗浄液細胞診, 尿 FCM, 膀胱洗浄液 FCM の3検査併用の場合はいずれも46% (23例)であった。

4. 膀胱癌のスクリーニングテストとして4検査をすべて用いた場合

前記した判定基準に従って判定したが, 膀胱腫瘍群における4検査を併用した場合の成績は, 98% (68例)が positive で, suspicious および false negative はそれぞれ1% (1例)であった。対照群では, 24% (12例)が negative, 30% (15例)が suspicious, 46% (23例)が false positive であった。

5. 以上の成績, すなわち尿細胞診, 膀胱洗浄液細胞診, 尿 FCM および膀胱洗浄液 FCM の4検査のうち1検査だけを用いた場合, 2検査を併用した場合, 3検査を併用した場合, 4検査すべてを用いた場合について, 膀胱癌のスクリーニングテストとしての false negative rate および false positive rate をまとめて Table 10 に示した。

考 察

尿中および膀胱洗浄液中の剝離細胞について, 細胞診と Flow cytometric analysis を行い, これら4種類の検査成績を比較することによって, 膀胱癌のスク

リーニングテストとしてどのような組合せが臨床上有用であるかについて検討した。

その結果, 検体として尿を用いた場合と膀胱洗浄液を用いた場合とではその成績に有意差は認められなかったが, FCM は細胞診よりも false positive rate が高く, false negative rate が低かった (Table 3, 4)。すなわち, 膀胱癌のスクリーニングテストとして今回検討した4検査のうち1検査だけを行うとすれば, 検体採取の容易な尿を用いて, false negative rate の低い FCM を行うのが最も適当であると考えられた。

次に, 膀胱癌のスクリーニングテストとして2検査を併用する場合には, 従来の尿細胞診と膀胱洗浄液細胞診の組合せは false positive rate は低いが false negative rate が高く, スクリーニングテストとしては適当でないと思われた。これに対して, 尿 FCM と膀胱洗浄液 FCM の組合せは false negative rate は低いが false positive rate が高く, これもスクリーニングテストとしては適していないと思われた。従って, false negative rate を低く, false positive rate も低くするためには, 細胞診と FCM を組み合わせるのがよいと考えられる。その組合せには4通りあるが, false negative rate については, これら4通りの組合せの間に有意差は認められなかった。临床上, スクリーニングテストとしては検体の種類を同じにする方が都合がよいので, 2つの検査を併用する場合には尿細胞診と尿 FCM の組合せか, 膀胱洗浄液細胞診と膀胱洗浄液 FCM の組合せかのいずれかを用いることになるが, false positive rate が低い傾向にあり, 検体採取も容易な尿細胞診と尿 FCM の組合せの方が有用であると考えられた。この場合には, false negative rate は4%, false positive rate は16%であり, 1つの検査だけを施行する場合に最もよいと考えられた尿 FCM の成績と比べても false ne-

gative rate が明らかに低い。

膀胱癌のスクリーニングテストとして3検査または4検査を用いた場合は、2検査併用の成績と比べて false negative rate はほとんど変わりがなく、検査数の増加とともに false positive rate が増加し、検体採取の煩雑性や経済的な問題を考慮すると、スクリーニングテストとして3検査以上を併用してもあまり意味がないものと思われた。

一般の泌尿器科外来においては、膀胱癌の補助診断として自排尿を検体とした尿細胞診および生食による膀胱洗浄液を検体とした細胞診がルーチンに行われている。自排尿を検体とした場合の利点は、検体採取が簡便で非侵襲的であること、上部尿路癌のスクリーニングテストとしても利用できることがあげられるが、細胞診の陽性率を高めるためには、自排尿よりも膀胱洗浄液を用いたほうが良いという結果がいくつかの施設から報告されている⁷⁾。いずれにしても細胞診の問題点としては、診断に熟練を要すること、検体の処理に比較的時間を要し、一度に多数の検体を判定することが困難であること、high grade な膀胱癌では陽性率が高いが low grade な癌では false negative rate が高くなる⁸⁾ ことなどがあげられている。

一方、FCM による剝離細胞の核 DNA 分析は、短時間に非常に多くの細胞について測定することができ、その判定は細胞診と比べて客観的かつ定量的であることが利点であるといわれている⁹⁾。また、細胞診では変性した細胞を正確に判定することが困難であるが、このような細胞についても DNA は比較的安定しているため、FCM では判定が可能である¹⁰⁾。Klein らは、組織学的に膀胱癌であることが確認された123例を対象とした膀胱洗浄液の FCM 検査を行い、papillary carcinoma の88%、flat carcinoma の98%が診断可能であったと報告している⁹⁾。Devonec らは、内視鏡的に膀胱腫瘍が認められた50例について、膀胱洗浄液を用いた FCM 検査の成績と尿細胞診の成績とを比較し、FCM では86%が陽性と判定されたのに対し細胞診ではわずかに44%が陽性であったと報告している¹¹⁾。また、Murphy らは、91例の膀胱癌患者より得られた膀胱洗浄液の FCM 検査と細胞診の陽性診断率は、それぞれ78%、75%であり、両者を併用すれば診断率を95%まで向上させることができると述べている¹²⁾。

以上のように、膀胱癌の補助診断として膀胱洗浄液 FCM 検査が有用であることを示す報告は多いが、FCM 検査においても low grade tumor に対して診断率が低いことが問題点として指摘されている。これ

は核異型性の低い細胞からなる腫瘍では DNA aneuploidy を期待することが難しいためである。また腫瘍が小さくて限局している場合や、浸潤癌で表層部分が潰瘍性変化をきたして、粘膜の表面が炎症性浸出物によって被覆されている場合にも false negative となる可能性がある⁹⁾。さらに、検体中に腫瘍細胞以外に白血球などの炎症性細胞や正常の膀胱粘膜剝離細胞が非常に多く含まれている場合には、DNA histogram pattern では腫瘍細胞による aneuploid peak が検出されずに false negative と判定される場合のあることも問題点の一つとなっている。また再発症例では、過去に行われた膀胱内への抗癌剤注入療法によって、局所の腫瘍細胞の増殖が抑制されると同時に、腫瘍の表層部にも denudation (裸化) や degeneration (変性) が惹起され、FCM 検査による判定が false negative となることが考えられる^{12,13)}。

今回の成績でも、膀胱洗浄液を用いた FCM で、膀胱腫瘍患者70例中11例が false negative であったが、このうちの7例(64%)では多数の炎症性細胞が認められた。同様に、尿 FCM でも70例中12例が false negative であり、このうちの7例(58%)は尿路感染を合併していた。尿細胞診、膀胱洗浄液細胞診、尿 FCM および膀胱洗浄液 FCM のいずれの検査においても false negative を示した症例が1例あったが、この症例は81歳の男性で、過去に経尿道膀胱腫瘍切除術(TUR-B)を受け、続いて抗癌剤による膀胱内注入療法を受けていた再発症例であった。術後定期的に膀胱鏡検査を受けていたが、直径1cm以下の単発性の乳頭状広基性腫瘍が膀胱頂部に再発したため再度TUR-Bを施行した。病理診断はgrade 2, stage T1の移行上皮癌であった。この症例では尿沈査で炎症性細胞が多数認められた。また、70例中3例では、今回の検討で膀胱癌のスクリーニングテストとして最も適当な組合せと考えられた尿細胞診と尿 FCM を併用しても、いずれも false negative であった。このうちの1例は前述した症例であるが、他の2例のうち1例は74歳女性の初発症例で、直径約3cmの乳頭状広基性腫瘍が左側壁に存在し、病理診断はgrade 2, stage T2の移行上皮癌であり、尿中に多数の炎症性細胞が認められた。残りの1例は39歳男性で、2回目の再発をきたした症例で、過去にTUR-Bおよび局所化学療法をそれぞれ2回施行されていたが、この症例では炎症性細胞は認められていない。以上のように、検体中に炎症性細胞が多数混入している症例、あるいは再発症例で過去にTUR-Bに加えて膀胱内注入による局所の化学療法を受けた症例では、尿 FCM

または膀胱洗浄液 FCM で false negative を示す場合があるので、FCM の成績を解釈するには尿所見ならびに過去の治療歴に注意する必要がある。

FMC 検査の成績が false positive となる場合の理由について検討した Murphy らの報告によれば、28 例の非腫瘍性疾患の患者から得られた膀胱洗浄液の FCM 検査で、4 例の前立腺疾患、放射線性膀胱炎を含む 2 例の膀胱炎、2 例の尿路結石症の計 8 例 (28.6%) が、false positive を示したと述べている¹³⁾。これらの 8 例はすべて hyperdiploid cell の割合が陽性基準に合致していたために陽性と判定されたものであって、明らかな aneuploid peak が認められたものはなかったという。また、Klein らも対象患者 100 名について、同様の結果を報告している¹⁴⁾。このように hyperdiploid cell population の増加によって false positive と判定された原因としては、尿路感染症、尿路結石、下部尿路の通過障害などにより、移行上皮細胞の turn over が亢進し、DNA 合成期にある 4 倍体細胞 (tetraploid cell)、再生上皮および増殖中の間質細胞が増加したことが考えられる^{12,15)}。同様の事実は細胞診においても指摘されており、膀胱に腫瘍が存在しない場合でも、膀胱炎、前立腺疾患、尿路結石症などがある場合には、変性した上皮細胞が出現するために細胞診で false positive となることがある¹⁶⁾。

今回の成績で、膀胱洗浄液 FCM が false positive を示したものは対照群 50 例中 9 例であり、このうちの 6 例に炎症を示す尿所見がみられた。尿 FCM でも false positive を示したものが 8 例あったが、このうち 5 例に炎症を示す尿所見がみられた。これらの false positive を示した症例はすべて tetraploid peak の存在と hyperdiploid cell の割合が 15% 以上という陽性基準に合致していたためであり、明らかな aneuploid peak を示したものは 1 例も認められなかった。対照群 50 例のうち尿所見が正常であった 30 例についてみると、膀胱洗浄液 FCM および尿 FCM での false positive rate はいずれも 3% であり、50 例全体の成績と比べると明らかに低値であった。一方、細胞診の false positive は尿で 1 例みられたが、この症例は 40 歳男性で、尿管結石の患者であり、尿検査で炎症性細胞が多数認められた。この症例の膀胱洗浄液細胞診は negative であったが、FCM 検査では尿および膀胱洗浄液とも false positive を示した。以上のように、尿路粘膜の細胞の turn over が亢進する疾患を伴う場合には、tetraploid cell population および hyperdiploid cell population が増加し、false positive と判定される可能性があり、FCM 検査の成績判定に

際しては注意が必要である。

一般に癌の早期発見、早期治療のために集団検診が広く行われている。その中で最も普及しているのは胃の集団検診であるが、他に、大腸癌、肺癌、子宮癌、乳癌などの癌検診も施行されている。しかし、膀胱癌の集団検診に関する報告はほとんどみられない。膀胱癌の頻度は胃癌や子宮癌に比べて低いため、集団検診を行ってもその効率が悪いと考えられていることや、検査成績の信頼性に疑問があることなどがそのおもな理由としてあげられる。しかし、前に記したように、膀胱癌による死亡者の数は近年次第に増加する傾向にあり、早期発見による早期治療の重要性を考えると、今から膀胱癌についても集団検診の方法を検討しておくことは意義のあることと考えられる。

実際に膀胱癌のスクリーニングテストを施行する場合には、その対象となるものはほとんどが自覚症状を有しない者であるから、今回の研究の対象となった膀胱腫瘍患者 70 例のうちから、肉眼的血尿および膀胱刺激症状を主訴とする症例や、主たる腫瘍の大きさが直径 3 cm を越える症例、および再発症例を除外した残りの 29 例について、さきに記したと同様の検討を行ってみた。その結果、1 検査のみを用いた場合には、膀胱洗浄液 FCM が最も false negative rate が低く 3% であった。2 検査を併用した場合には、膀胱洗浄液を用いた細胞診と FCM との組合せでは false negative を示した症例は見られなかった。しかし、尿を用いた細胞診と FCM との組合せにおいても false negative を示したものは 29 例中 1 例のみであり、両者の間に有意差は認められなかった。以上の結果から、集団検診の一項目として膀胱癌のスクリーニングテストを行う場合には、一般尿検査で血尿のみられた 40 歳以上の者を対象として¹⁷⁾、尿細胞診と尿 FCM とを併用することが最も有用であると考えられた。

結 語

1. 70 例の膀胱腫瘍患者からえられた尿細胞診、膀胱洗浄液細胞診、尿 FCM および膀胱洗浄液 FCM の false negative rate は、それぞれ 36%、38%、17% および 16% であった。

2. 50 例の対照患者からえられた尿細胞診、膀胱洗浄液細胞診、尿 FCM および膀胱洗浄液 FCM の false positive rate は、それぞれ 2%、0%、16% および 18% であった。

3. FCM の検体としては、尿を用いても膀胱洗浄液を用いても、その成績に有意差は見られなかった。

4. 尿細胞診、膀胱洗浄液膀胱診、尿 FCM およ

び膀胱洗浄液 FCM の4検査を組み合わせた場合、膀胱癌のスクリーニングテストとして最も適当な組合せは、尿細胞診と尿 FCM との併用であり、この場合の false negative rate は4%, false positive rate は16%であった。

5. FCM の検体中に炎症性細胞が多数混入している場合や、過去に抗癌剤による膀胱内注入療法を受けたことのあるものでは、false negative と判定される可能性がある。また、尿路粘膜の細胞の turn over が亢進するような疾患を伴っている場合には、false positive と判定される可能性があるので、FCM 検査の成績判定に際しては、炎症などの尿所見および過去の治療歴を考慮することが大切であると考えられた。

稿を終えるにあたり、御指導ならびに御校閲を賜りました宮崎 重教授に厚く感謝の意を表します。また、研究にあたり直接の御指導を頂きました岡田茂樹講師に深謝いたします。

なお本論文の要旨は第77回および第79回日本泌尿器科学総会にて発表した。

文 献

- 1) 大野良之, 青木国雄, 黒石哲生, ほか: 日本人の尿路性器癌の疫学. 臨泌 38: 555-569, 1984
- 2) 厚生省大臣官房統計情報部編: 悪性新生物死亡統計 昭和47年~59年人口動態統計特殊報告: 232-233, 280-281, 1987
- 3) Papanicolaou GN: Diagnostic value of exfoliated cells from cancerous tissues. JAMA 131: 372-378 1946
- 4) deVere White RW, Olsson CA and Deitch AD: Flow cytometry: Role in monitoring transitional cell carcinoma of bladder. Urology 28: 15-20, 1986
- 5) Vindeløv LL: Flow microfluorometric analysis of nuclear DNA in cells from solid tumors and cell suspensions. Virchows Arch Cell Path 24: 227-242, 1977
- 6) Klein FA, Herr HW, Whitmore WF Jr, et al.: An evaluation of automated flow cytometry (FCM) in detection of carcinoma in site of the urinary bladder. Cancer 50: 1003-1008, 1982
- 7) Zein T, Wajzman Z, Englander LS, Gamarra M, et al.: Evaluation of bladder washings and urine cytology in the diagnosis of bladder cancer and its correlation with selected biopsies of the bladder mucosa. J Urol 132: 670-671, 1984
- 8) Cowan DF, Brian WU, Young GP, et al.: Correlation of histopathological, cytological and flow cytometric findings in neoplastic and nonneoplastic lesions of the bladder. J Urol 138: 753-757, 1987
- 9) Klein FA, Herr HW, Sogani PC, et al.: Detection and follow-up of carcinoma of the urinary bladder by flow cytometry. Cancer 50: 389-395, 1982
- 10) Klein FA, Whitmore WF Jr, Herr HW, et al.: Flow cytometry followup of patients with low stage bladder tumors. J Urol 128: 88-92, 1982
- 11) Devonec M, Darzynkiewicz Z, Kostyrka-claps ML, et al.: Flow cytometry of low stage bladder tumors: Correlation with cytologic and cystoscopic diagnosis. Cancer 49: 109-118, 1982
- 12) Murphy WM, Emerson LD, Chandler RW, et al.: Flow cytometry versus urinary cytology in the evaluation of patients with bladder cancer. J Urol 136: 815-819, 1986
- 13) Têtu B, Katz RL, Kalter SP, et al.: Flow cytometry of transitional cell carcinoma of the urinary bladder: Influence of prior local therapy. Semi Diag Path 4: 243-250, 1987
- 14) Klein FA, Hell HW, Sogani PC, et al.: Flow cytometry of normal and nonneoplastic diseases of the bladder: An evaluation of the false positive rate. J Urol 127: 946-948, 1982
- 15) Klien FA and White FKH: Flow cytometry deoxyribonucleic acid determinations and cytology of bladder washings: Practical experience. J Urol 139: 275-278, 1988
- 16) El-Bolkainy MN: Cytology of bladder carcinoma. J Urol 124: 20-22, 1980
- 17) Froom P, Ribak J and Benbassat J: Significance of microhaematuria in young adults. Br Med J 288: 20-22, 1984

(Received on December 28, 1990)

Accepted on January 8, 1991