

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

論 文 提 出 者	松岡 太相
論 文 審 査 委 員	(主 査) 朝日大学歯学部教授 永山元彦 (副 査) 朝日大学歯学部教授 村松泰徳 (副 査) 朝日大学歯学部教授 友藤孝明
論 文 題 目	口腔粘膜擦過細胞診における細胞採取器具と標本作製法の検討
<p><u>論文内容の要旨</u></p> <p>【目 的】</p> <p>口腔粘膜擦過細胞診に使用される細胞採取器具は多岐にわたり、用いる器具によっては標本に回収される細胞量が少ないことがあるため、適切な細胞採取器具と標本作製法の選択が精度管理上重要となる。</p> <p>本研究の目的は、口腔粘膜擦過細胞診において推奨される適切な細胞採取器具および標本作製法の組み合わせを検討することである。</p> <p>【被験者および方法】</p> <p>口腔粘膜に異常のない被験者 5 名 (男性 4 名, 女性 1 名, 平均年齢 23 歳) を対象とし, Orcellex brush® (OB, Rover), 歯間ブラシ (Kulzer), 医療用綿棒 (カワモト) を使用し, 擦過部位は左側舌縁とした。本研究は, 朝日大学歯学部倫理委員会 (承認番号: 34006) を得て実施した。</p> <p>1. 細胞採取器具の観察</p> <p>被験者の左舌縁粘膜を歯垢染色液メルサーージュ PC ペレット (松風) で染め出し後, 各採取器具を用いて同部位を擦過し, 擦過直後と従来法および液状化検体細胞診 (LBC) 法で細胞を塗抹・攪拌した後の採取器具上の残存した細胞を実体顕微鏡 SZX7 (オリンパス) で観察した。</p> <p>2. ゲノム DNA 定量および統計解析</p> <p>各採取器具を用いて左側舌縁を擦過し, 従来法および LBC 法にて塗抹・攪拌後の標本に回収した細胞 (R1) および採取器具に残存した細胞 (R2) から, DNA 抽出試薬 Nucleospin Tissue® (タカラバイオ) を用いてゲノム DNA をそれぞれ抽出し, 蛍光分析試薬 FitAmp General DNA Quantification Kit® (EPIGENTEK) とマイクロプレートリーダー-Infinite M200 PRO (Tecan) を用いて R1 および R2 の平均ゲノム DNA 量を算出後, 採取細胞ゲノム DNA 量 (TG: R1+R2), 標本への回収率 (R1/TG×100) を算定し, 採取器具と標本作製法の組み合わせごとに比較した。また, 統計解析ソフトウェア JMP (SAS Institute) により, TG 量・R1 量について Kruskal-Wallis 検定および Steel-Dwass 検定にて比較を行い, 有意水準 5%未満を有意差ありと判定し採取器具と標本作製法の組み合わせ別に分析した。なお, 本研究では医療用綿棒を使用した LBC 法での R1 や R2 のゲノム DNA 抽出は, 細胞診ガイドラインに LBC 法で医療用綿棒を使用しない旨が記載されていることから実施していない。</p> <p>【結 果】</p> <p>1. 細胞採取器具の観察</p> <p>OB の場合, 採取直後の細胞はブラシの毛先頂部から中央に付着していた。従来法の細胞は毛先中</p>	

央部に付着していた。LBC法の細胞は毛先頂部に細胞が付着していた。歯間ブラシの場合、採取直後の細胞は毛先頂部から基部に付着していた。従来法の細胞は、毛先頂部および基部に付着していた。LBC法の細胞は、基部に付着していた。医療用綿棒の場合、採取直後および従来法の細胞は、綿体表層に絡まって付着していた。

2. ゲノムDNA定量および統計解析

OBおよび歯間ブラシのR1量および回収率は、LBC法では従来法の約2倍を示した。OBおよび歯間ブラシを用いたR2量は、LBC法ではどちらも同等の値を示した。また医療用綿棒を用いた従来法では、他の採取器具および標本作製法の組み合わせよりも高いR2量を示した。

統計学的分析で採取器具と標本作製法の組み合わせ別にTG量を比較した場合、いずれの採取器具・標本作製法においても有意差を認めなかった。TG量とR1量は、いずれの採取器具・従来法においても、R1量がTG量に対して有意に低かった。R1量では、OBを用いたLBC法は歯間ブラシおよび医療用綿棒を用いた従来法に対して有意に高く、歯間ブラシを用いたLBC法およびOBを用いた従来法は、医療用綿棒を用いた従来法に対して有意に高かった。

【考察】

TG量はいずれの採取器具や標本作製法でも有意差を認めないことから、不適正標本は標本作製過程で生じる可能性がある。

従来法による塗抹では、スライドガラスに触れない部分に付着した細胞はそのまま器具に残存したと考えられた。ブラシ系採取器具を用いたLBC法では攪拌によって採取した細胞が器具から剥がれ落ちるため従来法より標本への細胞回収量が多くなると推測された。OBは従来法においてガラスに接触する毛先頂点部の細胞量が歯間ブラシよりも多く、従来法におけるOBと歯間ブラシの細胞回収量に差が生じたと考えられた。歯間ブラシは細い刷毛がワイヤーで固定され、本来の使用目的であるデンタルプラークの除去および保持に優れるため、LBC法による攪拌ではボトル溶液中に移行しなかったと示唆された。

なお本研究では、OBおよび歯間ブラシでの従来法・LBC法それぞれの細胞回収量に有意差を認めないため、今後サンプル数を増やして更なる検討が必要である。

【結論】

口腔粘膜擦過細胞診に用いる適切な細胞採取器具と標本作製法の組み合わせの選定について検討した結果、以下のことが考えられる。

1. 不適正標本を防止するには、標本作製過程が重要となる。
2. 口腔粘膜擦過細胞診において、LBC法が従来法よりも標本への細胞回収に優れる。
3. ブラシ系採取器具は従来法およびLBC法で細胞回収に優れる。

これらの結果から、ブラシ系採取器具を用いたLBC法が細胞回収に貢献し、細胞量不足による不適正標本の防止ならびに口腔粘膜擦過細胞診における精度管理の向上に繋がることが示唆される。