

学 位 論 文 審 査 の 要 旨

論文提出者	諏訪 若子
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 住友伸一郎 (副 査) 朝日大学歯学部 教授 河野 哲
論文題目	
口腔粘膜上皮細胞における液状化検体細胞診の細胞学的特徴と臨床への有用性	
論文審査の要旨 【目的】 口腔がんは他の部位のがんと異なり，直接見て触れることから，集団検診や歯科診療所で発見が可能で，歯科医療関係者の果す役割は極めて重要である．一方，病理検査の中で低侵襲性かつ簡易的に実施可能な口腔粘膜細胞診を口腔がん検診に摘要する歯科診療所が増えてきているが，直接スライドガラスに塗りつける従来（CS）法に比べて，液状化検体細胞診（LBC）法は採取手技やその後の標本作製，さらに細胞診判定上極めて重要な細胞質の色合い，明るさ，鮮やかさ等の違い等それぞれに一長一短がある．そこで正常な舌縁部粘膜上皮細胞検体の細胞の形態所見として細胞や核の面積および核・細胞質比（N/C）さらに細胞質の見え方（明度，彩度，色度）の違いをCS法とLBC法の標本で比較検討した． 【材料と方法】 学生ボランティア 14 名から採取した細胞検体と，朝日大学歯学部附属病院口腔外科を受診し，CS法とLBC法の両方を用いた細胞診判定で Low grade Squamous Intraepithelial Lesion or low grade dysplasia（LSIL, 5例），High grade Squamous Intraepithelial Lesion or high grade dysplasia（HSIL, 2例），あるいは Squamous Cell Carcinoma（SCC, 2例）とされた9症例を研究材料とした．本研究は，朝日大学歯学部倫理審査委員会による審査および承認を得て実施した（承認番号：26172号）．歯学部学生ボランティアの左右舌縁部を歯間ブラシにて10回擦過し，口腔粘膜上皮細胞を採取した．右側舌縁部の細胞は，CS法としてスライドガラスに直接塗抹し，95%エタノールにて速やかに固定した．左側舌縁部の細胞は，LBC法として専用の固定液バイアル瓶に回収し，スライドガラスに転写後，95%エタノールにて固定した．両法により作製した標本は通法に従い Papanicolaou（PAP）染色を施した．なお，標本観察は光学顕微鏡にて10倍対物レンズを用い，顕微鏡撮影用カメラで解析用画像を撮影した． 撮影した画像は画像解析ソフトでPAP染色のオレンジG好染（OG）細胞とライトグリーン好染（LG）細胞について，細胞面積，核面積を計測し，N/Cを算出した．細胞質の見え方は，学生ボランティアおよび患者症例の細胞を用いて画像解析ソフトで色度，彩度，明度を数値化して求めた．算出した値は，統計解析により計測値の分布・要約統計量とCS法基準値1に対する比で表した．	

【結 果】

1. 正常舌粘膜上皮細胞における解析

細胞面積は OG 細胞 0.699, LG 細胞 0.665 で、いずれも LBC 法標本でそれぞれ 30%, 33% 低値を示した ($p<0.001$)。核面積は OG 細胞 0.731, LG 細胞 0.726 で、いずれも LBC 法標本で約 27% 低値を示した ($p<0.001$)。N/C 比は、OG 細胞 1.07, LG 細胞 1.04 と、いずれも LBC 法標本でわずかに高値を示した ($p<0.001$)。

明度は OG, LG 細胞いずれもそれぞれ 0.902, 0.906 で、LBC 法標本で低値を示した ($p<0.001$)。彩度は OG 細胞 0.866, LG 細胞 0.851 で、いずれも LBC 標本で低値を示した ($p<0.001$)。色度は、OG 細胞 1.072 ($p<0.001$)、LG 細胞 1.017 (有意差なし) で、いずれも LBC 法標本でわずかに高値を示した。

2. 患者症例における OG 細胞の色彩解析

明度は、LSIL 0.927 ($p<0.01$)、HSIL 0.959 (有意差なし) で、LBC 法標本で低値を示し、SCC では 1.049 (有意差なし) と高値を示した。彩度は LSIL 1.038, HSIL 0.984, SCC 1.002 (いずれも有意差なし) で、LSIL と SCC では LBC 法標本でわずかに高値を示したが HSIL では低値であった。色度は LSIL 0.891, HSIL 1.264 (いずれも有意差なし)、SCC 1.729 ($p<0.01$) で、LBC 標本で LSIL が低値を示したが、HSIL および SCC が高値を示した。

【考 察】

LBC 法では手技による乾燥が回避される反面、N/C が高めに判定される傾向があった。これは LBC 法で用いられる保存液の性状に左右されることが考えられた。今回用いた細胞固定液はメタノールを基本とするため、エタノールのみで固定する CS 法よりも細胞や核がともに収縮し、細胞面積よりも核面積の収縮が少ないことが N/C の高値を示す要因と考えられた。

正常舌粘膜上皮細胞における明度および彩度の結果より、LBC 法は CS 法に比べて『薄く』または『淡い』色にみえる傾向があった。一方、患者症例における明度と彩度に有意な差は認めなかったが、SCC における色度が有意に高値を示したことから、色味や着色の度合いが高いことよりいわゆる輝度が高くなる傾向を示すと考えられた。

【結論】

LBC 法は CS 法よりも標本の細胞面積が収縮する傾向を示すことから、LBC 法標本を検鏡する場合は、細胞が小さく、N/C が高めに見えることを念頭に細胞診判定を行う必要があるが、一方、悪性を疑う所見のいわゆる輝度に関して、LBC 法は CS 法よりも色味や着色の度合いが高いことよりいわゆる輝度の上昇が判定しやすく、スクリーニング検査で CS 法よりも有用であることが示唆された。

審査では、学位申請者による論文内容について概要説明に続き、表記方法やデータについての確認を行い、修正の必要な箇所や内容の詳細説明を求め、学位申請者はこれに対して的確な回答を行った。また、本論文の研究の目標は口腔がんの早期発見・早期治療であることを踏まえた臨床応用に直結するものであり、意義のある研究内容でこれからの発展に貢献できるものであることを主張している。