

大腸癌新鮮切除標本をもちいた povidone-iodine 液による 化学的腸管洗浄法の検討

昭和大学医学部第2外科学教室 (主任: 草野満夫教授)

高 田 学

Implantation metastasis を予防する化学的腸管洗浄液としての povidone-iodine (PVP-I) の有用性を大腸癌新鮮切除標本を用いて検討した。予備実験でヒト大腸癌細胞株と PVP-I を接触させた後に行った密度勾配遠心法では viability の消失した癌細胞は最下層に沈殿したため、これを臨床検体に応用した。切除標本24例を対象とし癌腫の口側と肛門側腸管洗浄液 (OF, AF) を採取後密度勾配遠心法で癌細胞を分離し、最初の8例は癌細胞の viability 評価を、次の16例は検体を二分して PVP-I 接触による遊離癌細胞の viability の変化を検討した。前者の viability の研究では採取した全例に癌細胞が認められ、その viability は OF 86%, AF 67%であった。後者の抗腫瘍効果の研究では0.5%PVP-I では viability は OF 67.8%, AF 63.6%と十分な殺細胞効果が得られず5%PVP-I では OF, AF 共に0%と効果が認められた。腸管内遊離癌細胞は高い viability を有するが、これは5%PVP-I により消失した。PVP-I の術中腸管洗浄液としての有用性が示唆された。

Key words: implantation metastasis of colorectal carcinoma, exfoliated carcinoma cells, chemical wash out, povidone-iodine

はじめに

大腸癌における腸管内遊離癌細胞は高い viability を有し、局所再発の原因のひとつとして implantation metastasis の可能性が強く示唆されている¹⁾²⁾。この遊離癌細胞の viability を低下させるため臨床では種々の化学的洗浄法が行われており^{3)~6)}、その根拠の一つとして動物実験では implantation の予防に関する in vitro および in vivo study での検討がなされている⁷⁾⁸⁾。一方、臨床研究としては、大腸癌標本そのものを処理して得られた癌細胞に対する抗腫瘍活性を検索した報告はあるが³⁾、腸管洗浄液から分離された癌細胞に対する抗腫瘍効果を検討した報告は著者が調べたかぎりみられなかった。そこでヒト大腸癌細胞株を用いた研究を行ったうえで、implantation metastasis に関与する新鮮切除腸管内に遊離した大腸癌細胞を用いて、povidone-iodine 液の抗腫瘍効果を検討したので報告する。

対 象

1) 研究1: ヒト大腸癌細胞株 CW-2 (RIKEN Cell

<1997年2月12日受理> 印刷請求先: 高田 学
〒142 品川区旗の台1-5-8 昭和大学医学部第
2外科学教室

Bank より購入) を10%牛胎児血清を添加した細胞培養液 DM160-AU (極東製薬) で、5%CO₂, 37°Cの条件下に静置培養した。povidone-iodine 液(以下、PVP-I と略記)は10%消毒用イソジン液(明治製薬)を組織培養液 TCM-199 (GIBCO) で希釈して用いた。

2) 研究2 および研究3: 対象は1995年7月より1996年7月までの13か月間に、教室および関連施設で切除された大腸癌24例で男女比は3:5、平均年齢は67.9 (37~86) 歳であった。最初の8例は得られた腸管内遊離癌細胞のすべてを cell viability の検索に用いた(研究2)。次の16例は検体を二分し、一方を対照として cell viability の検索に、他方を PVP-I に接触させ癌細胞の viability の変化の検討(研究3)に用いた。

方 法

1) 研究1: gradient 分離法による viability の判定 CW-2 細胞を機械的に剝離後170g×5分で遠沈し、5×10⁵個/ml に調整した細胞浮遊液を作製し、対照群、0.5%PVP-I 接触群および5.0%PVP-I 接触群(以下0.5%PVP-I 群、5.0%PVP-I 群)の3群に分けた。各接触群は希釈した PVP-I と conical tube 内で5分間、室温(約20°C)、室内光にて接触混和させ、対照群は無

処置とした。各群とも培養液で1回洗浄し、遠沈後再び各1mlの細胞浮遊液とした。癌細胞の分離はUmplebyらのNycodenz linear gradient column法を用いた¹⁾。すなわち、15ml conical tubeにNycodenz (Nycomed, Oslo)と培養液の比率を3:0, 2:1, 1:1, 1:2とした各3mlの分離液を順次重層し、45度に傾けて室温下45分間静置後、得られた細胞浮遊液をその上に重層した。1,500g×45分で遠沈し、上方の低密度の層から順に1.6mlずつseg. 1, seg. 2, …seg. 8として細胞を分離採取した。このうち200 μ lを等量の0.4%trypan blue染色液(Gibco)と3分間混和後、倒立顕微鏡下にBurker-Turk計算盤を用いて細胞数を算定し、全細胞数に対する非染色細胞の比率をviabilityとして評価した(trypan blue exclusion test)⁹⁾。

2) 研究2: 腸管内遊離癌細胞の細胞数およびviability

a) 腸管内細胞浮遊液の採取: 切除直後の管状のままの新鮮標本をもちいて、癌腫の直上と直下に腸鉗子をかけた後、口側と肛門側の断端より別個に培養液を40mlずつ注入、腸管内を洗浄後これをそれぞれ別に回収した。イレウス状態で残査が多いものや、腫瘍から断端までの距離が短く洗浄不能であるものは対象から除外した。洗浄液中の便残査を除去するために、標体をガーゼおよび#100 μ mのstainless steel meshに通し、培養液で2回洗浄、遠沈(170g×5分)を繰り返し最終的に1mlの細胞浮遊液とした。

b) 癌細胞の分離と算定: 細胞の分離は基礎実験と同様にNycodenz linear gradient columnを用いた。臨床検体ではgradient内に形成されるいくつかのbandのうちtop-bandに癌細胞が集まるが、このtop-bandを含めた浮遊液を回収し、trypan blue exclusion testを行うとともに、残った浮遊液をさらに遠沈し、得られたpeletをPapanicolaou染色した後、細胞診専門医により癌細胞の存在を確認した。

c) 研究2で得られた細胞数と臨床病理学的因子の関係を調査した。なお使用する臨床病理学的用語は大腸癌取り扱い規約(第5版)¹⁰⁾に準じた。

3) 研究3: 腸管内遊離癌細胞に対するPVP-Iの抗腫瘍効果

腸管内遊離癌細胞の採取と分離、測定法は研究2と同じ方法を用いたが、a)で採取された細胞浮遊液1mlを二等分し、培養液でそれぞれ1mlの浮遊液に希釈した。二等分した16例の検体でPVP-Iと接触させずに細胞数とviabilityの評価を行ったものを対照群とした。

残った16検体のうち6検体は0.5%PVP-Iと、10検体は5.0%PVP-Iとそれぞれ5分間接触させた後同様の評価を行った(以下、0.5%PVP-I群、5.0%PVP-I群と略記)。統計学的検討では、相関関係の有無はSpearmanの順位相関係数を算出し、 $\pm 0.40 \sim \pm 1.00$ を相関有りとした。2群間の有意差の検定は中央値を用いたMann-Whitney検定を、多群間の有意差の検定には同様にKruskal-Wallis検定を用い、 $p < 0.05$ を有意の差有りとした。

結 果

1) 研究1

3群のgradientにおいて各segmentの細胞数を比較すると、対照群ではseg. 3に 2.16×10^5 個(回収された細胞数の72%)集まりtop-bandを形成したのに対し、0.5%PVP-I群、5.0%PVP-I群ではともにseg. 3の細胞数は 0.25×10^5 個以下と減少し、seg. 8で0.5%PVP-I群では 2.34×10^5 個(47%)、5.0%PVP-I群では 3.46×10^5 個(69%)と細胞数は増加していた(Fig. 1)。各segmentに含まれる細胞のviabilityはseg. 3で92%であり、seg. 8は0%であった(Table 1)。Gradient分離法の細胞回収率は対照群73%、0.5%PVP-I群53%、5.0%PVP-I群73%であった。

2) 研究2

8例のうち口側腸管洗浄液(OF)からは5例、肛門側腸管洗浄液(AF)からは8例の検体が採取可能であった。OFでは5例中5例(100%)に癌細胞を認め、細胞数の中央値は 3.32×10^5 個であり、viabilityは86%であった。AFでも、8例中8例(100%)に癌細胞を認め、細胞数は 1.47×10^5 個でviabilityは67%であった(Table 2)。

Fig. 1 Cell count in each segment of gradient

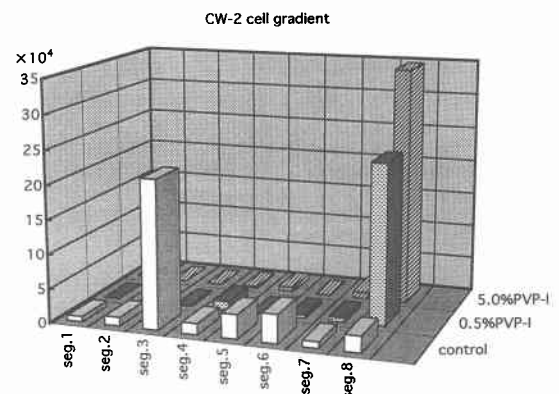


Table 1 Cell viability in each segment of gradient (%)

	control	0.5% PVP-I	5.0% PVP-I
seg. 1	100	0	0
seg. 2	100	0	0
seg. 3	92	0	0
seg. 4	80	50	0
seg. 5	95	0	0
seg. 6	73	0	0
seg. 7	0	0	0
seg. 8	0	0	0

Table 2 The viability study of exforiated color-ectal carcinoma cells

Case	Cell count × 10 ⁵		Viability (%)	
	OF	AF	OF	AF
1	0.95	1.65	86	74
2	1.38	0.45	88	0
3	*	2.2	*	96
4	3.32	0.26	86	77
5	*	0.5	*	60
6	7.2	8.68	52	53
7	*	4.1	*	85
8	6.92	1.28	48.5	53
Median	3.32	1.47	86	67

Table 3 Background of the viability study. Any factor did not have significant relationship to cell count

Cases	age/sex	locat.	proc.*	type	size (mm)	OW (cm)	AW (cm)	stage (hist.)	Dukes	diff.	dep.	n	ly	v	CEA	CEA 19-9	PEG***
1	66/F	C	Rhc	3	45	20(1)**	25	III a	C	mod	se	1	2	1	8.9	110	-
2	55/M	Rs	LAR	2	80	3	7	III a	A	well	pm	0	1	1	1	8	+
3	62/M	S	Sc	1	35	9	10	I	A	well	m	0	0	0	3	<4.3	+
4	64/F	S	Sc	2	40	6	8	III a	C	well	se	1	2	1	1.6	22.6	+
5	79/M	C	Rhc	2	60	10(0.5)	15	III a	B	mod	se	0	2	2	7.4	54.2	-
6	74/F	A	Rhc	2	40	8(2)	22	II	B	well	se	0	1	0	3.5	<4.3	+
7	63/F	A	Rhc	2	25	5(1)	15	II	B	well	se	0	1	1	4.2	<4.3	-
8	70/M	S	LSS	2	50	18	15	IV	C	well	se	1	1	2	681	7,419	+

***Procedure**

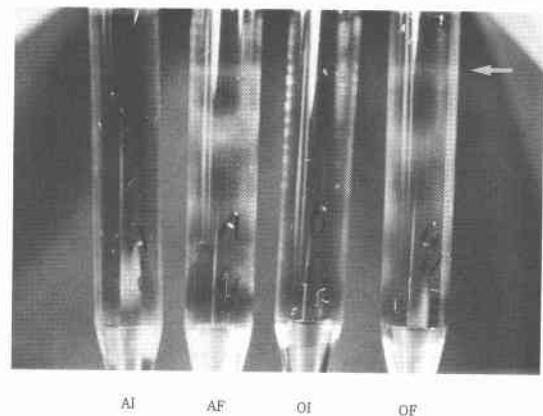
Rhc : right hemi-colectomy
 ex Rhc : extensive right hemi-colectomy
 Tc : transverse colectomy
 Sc : sigmoid colectomy

腸管内細胞数と臨床病理学的因子の関係では年齢、占居部位、肉眼形態、最大径、組織分類、深達度分類、リンパ節転移、脈管侵襲の程度、組織学的病期、Dukes分類、切除断端までの距離、術前の血清腫瘍マーカー値 (cut off 値 CEA : 5.0ng/ml, CA19-9 : 4.3ng/ml)、術前の腸管処置 (polyethylene glycol : PEG 内服の有無) のすべてにおいて有意な相関を認めなかった (p > 0.05) (Table 2, 3).

3) 研究 3

実際の臨床検体で linear gradient column 法で分離された top-band を Fig. 2 に示す。OF, AF の検体で

Fig. 2 Top-band (arrow) in linear density gradient columns. A half of cell specimen in fluid of oral side (OF), and the other half of same specimen added to 5.0% PVP-I (OI), specimen in fluid of anal side (AF) and (AI).



LSS : laparoscopic sigmoidectomy

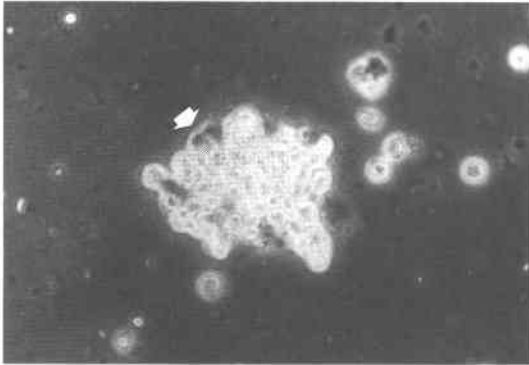
LAR : low anterior resection

**Numbers in brackets, distance from ileocecal valve

***PEG : polyethyleneglycol

は肉眼的に明らかな band が形成されているのに対して、同じ検体から5.0%PVP-I に接触させた OI, AI では明らかな band を観察できなかった。trypan blue exclusion test では癌細胞は塊状もあれば、単離した細胞も多く観察された (Fig. 3)。矢印に示す染色細胞を死細胞と判定した。Papanicolaou 染色では核の異

Fig. 3 Trypan blue exclusion test. Arrow shows dead cells.



形性とクロマチンの増加より癌細胞と判断した。

研究 3 では検体を二分したため、細胞数は最終的に 2 倍して評価した。対照群 (case 9~24) 16 例中、OF で 14 例、AF は 15 例で検体を採取し、全例に癌細胞を認めた (Table 3)。細胞数の中央値は OF 8.88×10^5 個、AF 14.9×10^5 個、viability は OF 85.5%、AF 76% であった。研究 3 の対照群についても、研究 2 の c) と同様に細胞数と臨床病理学的因子との相関関係は認められなかった。0.5%PVP-I 群 (case 9-I~14-I) 6 例のうち、OF は全例で、AF は 5 例で検体を採取し、OF は 5 例 (83%) に AF は全例で癌細胞を認め、細胞数は OF 3.33×10^5 個、AF 4.45×10^5 個であり viability は OF 67.8%、AF 63.6% であった (Table 5)。5.0% PVP-I 群 (case 15-I~24-I) 10 例中、OF では 8 例で、AF は 10 例で検体を採取したが、OF は全例に AF は 7 例 (70%) で癌細胞を認め、細胞数は OF 0.34×10^5 個、AF 0.30×10^5 個であり viability は OF、AF とも 0% であった。

3 群の細胞数と viability を中央値を用いて比較した (Fig. 4)。OF、AF いずれにおいても細胞数で対照

Table 4 Result of cotrol group in the tumoricidal study
Control (case 9~24)

Cases	Cell count $\times 10^5$		Viability (%)		age/sex	locat.	proc.
	OF	AF	OF	AF			
9	5.1	15.4	82.4	94.5	62/F	T	Rhc
10	19.5	13	62	59.6	63/F	S	Sc
11	7.95	14.9	96.9	52.7	64/F	C	Rhc
12	11.3	6.6	91.2	79.5	65/F	S	LSS
13	83.9	17.3	95	92	67/F	Rs	LAR
14	1	*	85	*	71/F	A	Rhc
15	72.6	0.75	93	73	71/F	S	LSS
16	0.79	0.68	86	85	76/M	S	Sc
17	0.6	31.2	73	69	84/F	S	Sc
18	9.8	19.6	82	86	76/F	A	Rhc
19	4.5	20.5	66	76	65/M	C	ex Rhc
20	35.2	24.8	65	76	76/M	S	LSS
21	*	34.2	*	55	81/M	A	Rhc
22	*	14.2	*	33	86/M	A	Rhc
23	4	14.4	98	65	37/F	T	Tc
24	42.5	3.3	91.6	86.4	52/F	T	Tc
Median	8.88	14.9	85.5	76			

Table 5 Result of experimental groups in the tumoricidal study
0.5% PVP-I (case 9-I~14-I)

Case	Cell count $\times 10^5$		Viability (%)	
	OI	AI	OI	AI
9-I	3.7	19.8	56.8	63.6
10-I	29.5	13	58.5	94.5
11-I	2.95	4.45	96.6	93.3
12-I	9.15	0.7	84.7	0
13-I	0.65	1.75	77	49
14-I	0	*	0	*
Median	3.33	4.45	67.8	63.6

5.0% PVP-I (case 15-I~24-I)

Case	Cell count $\times 10^5$		Viability (%)	
	OI	AI	OI	AI
15-I	0.1	0.25	0	20
16-I	0.24	0.4	33	0
17-I	0.45	0.45	0	22
18-I	0.1	0	0	0
19-I	0.5	0	0	0
20-I	0.8	0.3	0	0
21-I	*	0.4	*	0
22-I	*	0	*	0
23-I	0.3	0.3	25	20
24-I	1.4	0.7	0	0
Median	0.34	0.3	0	0

OI: Specimen added to PVP-I in the oral side of tumor

AI: Specimen added to PVP-I in the oral side of tumor

群と0.5%PVP-I群間では有意な差を認めず、対照群と5.0%PVP-I群間で有意な差を認めた ($p < 0.05$)。また viability も対照群と0.5%PVP-I群間で OF, AF 共に有意な差を認めず、対照群と5.0%PVP-I群間で有意な差を認めた ($p < 0.05$)。

考 察

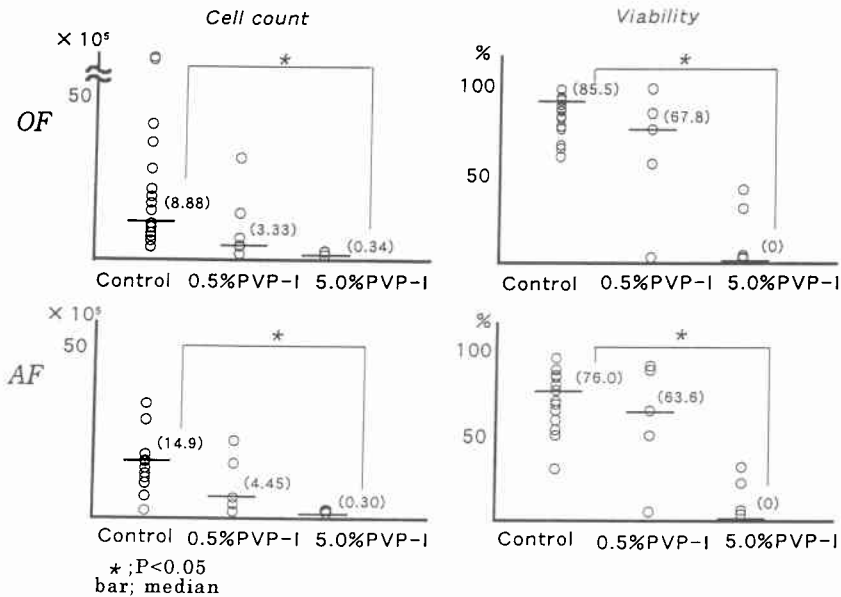
大腸癌術後の局所再発の原因のひとつであるとされる implantation metastasis への対策として術中腸管内洗浄法が有用であるが、大量の洗浄液を用いる機械的洗浄法に加え、より抗腫瘍効果のある液体で簡便に行える化学的洗浄法が期待されている³⁾⁴⁾¹¹⁾。粘膜ひだの間にある癌細胞は機械的洗浄のみでは排除困難であるとされており¹¹⁾、これに対して薬剤の接触による細

胞傷害効果が加えられ、また身近にある抗腫瘍作用薬を使用することで洗浄の量や煩雑さを減らすことができれば、より多くの施設で化学的洗浄法が受け入れられると思われる。臨床では retrospective study で局所再発率の減少に対する化学的洗浄法の有用性を示した報告は多く^{12)~15)}、Long ら⁴⁾は formaldehyde を用いた大腸癌自験洗浄例の局所再発率2.6%と非洗浄群の14.3%を報告している。この差を明らかにするためには、腸管内遊離癌細胞の viability を示すとともに、それを用いて直接洗浄液の抗腫瘍効果を証明するのがより科学的であると思われ、この意味で本研究は従来の動物癌による in vivo study⁸⁾やヒト癌細胞株などを用いた in vitro study¹⁶⁾と異なり、より直接的な評価と考えられる。

化学的洗浄液としては PVP-I, formaldehyde, chlorhexidine-cetrimide, noxythiolin などがあり、umpleby らの報告³⁾によれば、67%の外科医が腸管洗浄を行い、洗浄液として chlorhexidine-cetrimide と PVP-I が推奨されている。Docherty らによる調査¹⁶⁾でも82%の外科医が implantation metastasis を認識し、このうちテープ結紮法の採用率が17%であるのに対し、70%が腸管洗浄を行い、そのうち48%が PVP-I を用いている。

PVP-I は消毒薬として頻用され、手術現場では入手しやすい。その細菌にたいする殺菌効果に加え癌細胞への殺細胞効果が着目され、乳癌の局所洗浄¹⁷⁾¹⁸⁾や大腸癌の腸管内洗浄の可能性について、生検組織や培養細胞系をもちいた報告³⁾¹⁶⁾がなされている。興味深いことに殺菌効果は他の薬剤と異なり、PVP-I は希釈することにより効果が増強しブドウ球菌に対しては希釈倍率20倍 (0.5%) 前後が最も有効であるとされている¹⁹⁾²⁰⁾。その理由として濃度が高い状態では基質である polyvinylpyrrolidone (PVP) の形成する3次元構造のなかに、遊離ヨウ素 (non-complexed iodine, I_2 や I_3^-) がからめ取られてしまう機序が推察されている。ヨウ素は分子やイオンとして pH や温度の影響下に平衡状態にあり、遊離ヨウ素と平衡を保っている H_2OI^+ は細胞膜の S 基や tryptfan に強力な還元作用をおよぼす細胞傷害作用の中心であるが、反応が続けば H_2OI^+ に引き続き遊離ヨウ素はつぎつぎと消費される。遊離ヨウ素の量を tumoricidal potential とすれば、これを供給する PVP に結合した総ヨウ素の量は capacity と考えられる。0.5%前後の希釈濃度では potential が高く、十分な液量と接触できる条件下、例

Fig. 4 Cell count and viability in the top-band



例えば菌培養や細胞培養では傷害能は高い。しかし臨床的には、周囲の有機物の存在に加え菌や細胞数が一定でなく、つぎつぎと I₂ や I₃ が消費され capacity の低い濃度では効力も一様に期待できない。手袋のパウダーや赤血球が PVP-I の抗腫瘍効果を低下させるという報告²¹⁾があり、また in vitro study と in vivo study では抗腫瘍効果が発生する濃度に差異が生じることも報告されている¹⁶⁾。今回の研究では大腸癌新鮮標本の腸管内遊離癌細胞に対しては 0.5% PVP-I 洗浄では十分な抗腫瘍効果があるとはいえず、5.0% PVP-I 洗浄で有意な効果があることが明らかとなったが、この研究は in vitro study のため検体に含まれる腸液内の種々の有機物や腸内細菌の影響があったものと考えられた。

腸管内遊離癌細胞については、Umpleby ら¹¹⁾の 79.3~92.5%、角田ら²¹⁾の 79~83% と同様に、この研究でも OF 86%、AF 67% と高い viability を有することが明らかとなり implantation metastasis の可能性が示唆された。局所再発を回避するために、まず腸管外の脈管組織を含む結合組織の郭清が行われる²²⁾。しかし、implantation metastasis による局所再発の臨床例が存在する²³⁾²⁴⁾ ことに加え、縫合糸や staple への癌細胞の付着が確認されており²⁵⁾²⁶⁾、implantation metastasis に対する対策を講ずる必要がある。implantation が発生する危険性の予測は困難で、Umpleby ら¹¹⁾と同

様にこの研究でも臨床病理学的因子と細胞数との因果関係は認められなかったが、早期癌でも viable な癌細胞が採取されたことは注目すべきことである。自動吻合器の使用例では局所再発のリスクが高いという報告があり²⁶⁾、さらに近年普及しつつある腹腔鏡下の手術では、癌腫付近を鉗子で把持し挙上する操作が避けられず、腸管内に多くの癌細胞が遊離する危険がある。

研究 1 から、PVP-I との接触によって変化した癌細胞の viability を判定する 1 つの方法として、linear gradient column 法における top-band の細胞数を count する方法が有用と思われた。すなわちヒト癌細胞株を用いた in vitro の系における viability の評価は trypan blue exclusion などの従来の方法で十分であるが、本研究のように腸液などの臨床検体を扱う場合には、まず癌細胞の分離が必要となる。linear gradient column 法では viable な癌細胞は top-band を形成し死細胞は沈澱することが明らかとなったので、同一検体で薬剤の殺細胞効果をみる場合は top-band の細胞数を対照と比較することが有用と考えられた。また trypan blue exclusion test の肉眼的な viability の判定能は、細胞膜は保たれているもののその後細胞として機能しない twilight zone of viability の存在などの問題点⁹⁾もあり、top-band の細胞数の比較を加えることでより判定能が向上すると考えられた。

PVP-I による化学的洗浄法の問題点として、正常腸

管粘膜細胞への影響や腸管内細菌叢の変化, さらに腸管より吸収される無機ヨウ素の人体に及ぼす影響が考えられる。白血球の遊走能や線維芽細胞の活性を低下させるという報告もある²⁷⁾が, 細胞膜傷害能は H_2OI^+ が接触した一層の細胞層にとどまり, 粘液につつまれた再生の強い腸管上皮を大きく脱落させるには至らないものと推察している。また術前の経口化学的腸管前処置と異なり, 腸管吻合後は口側の腸管より腸内細菌が次々と補われると推測される。腸管から吸収される無機ヨウ素の影響については, 健常人ではすみやかに腎臓より尿中に排泄されると考えられる²⁸⁾が, 腎機能低下や甲状腺機能の低下した症例への使用は慎重を期すべきである。すでに Banich ら⁶⁾は大腸手術時に腹腔内や腸管内を10%のPVP-Iで洗浄した367例でヨウ素中毒の発生はないと報告しており, われわれが実際に洗浄した臨床例においてもこれまでに合併症の発生は認めていない。この研究では希釈倍率5.0%でのPVP-Iの有効性が示唆されたが, 化学的洗浄法が多く of 施設でより安全な方法として普及するためには, さらに症例を重ね, 手術侵襲期の腸管内投与について至適濃度, 量等の検討が必要であると考えられる。

稿を終えるにあたり, 御指導, 御校閲をいただいた草野満夫教授, 澁澤三喜助教授, 角田明良講師に深謝いたします。また povidone-iodine について御教えいただいた昭和大学薬学部薬品分析化学教室の前田昌子教授, 田村善蔵教授, さらに医学部外科学教室研究室の皆様にも深く御礼申し上げます。

文 献

- Umpleby HC, Fermor B, Symes MO et al: Viability of exfoliated colorectal carcinoma cells. *Br J Surg* 71: 659-663, 1984
- 角田明良, 澁澤三喜, 神山剛一ほか: 腸管洗浄法による大腸癌切除標本での遊離癌細胞検出頻度とその viability について. *日消外会誌* 29: 1022-1027, 1996
- Umpleby HC, Williamson RCN: The efficacy of agents employed to prevent anastomotic recurrence in colorectal carcinoma. *Ann R Coll Surg Engl* 66: 192-194, 1984
- Long RTL, Edwards RH: Implantation metastasis as a cause of local recurrence of colorectal carcinoma. *Am J Surg* 157: 194-201, 1989
- Southwick HW, Harridge WH, Colf WH: Recurrence at the suture line following resection for carcinoma of the colon. *Am J Surg* 103: 86-89, 1962
- Banich FE, Mendak SJ Jr: Intraoperative colonic irrigation with povidone-iodine; an effective method of wound sepsis prevention. *Dis Colon Rectum* 32: 219-222, 1989
- Fermor B, Umpleby HC, Lever JV et al: Proliferative and metastatic potential of exfoliated colorectal cancer cells. *J Natl Cancer Inst* 76: 347-349, 1986
- Hubens G, Willems G: Factors influencing the implantation of colon cancer cells on the colonic suture line in rats. *Eur Surg* 22: 356-364, 1990
- Tennant JR: Evaluation of the trypan blue technique for determination of cell viability. *Transplantation*. Vol 2, The Williams & Wilkins Co, USA 1964, p685-694
- 大腸癌研究会編: 大腸癌取扱い規約. 改訂第5版. 金原出版, 東京, 1994
- 神藤英二, 望月英隆, 長谷和生ほか: 直腸癌前方切除術における術中肛門側直腸内洗浄の効果と問題点. *日本大腸肛門病会誌* 49: 399-404, 1996
- Keynes WM: Implantation from the bowel lumen in cancer of the large intestine. *Ann Surg* 153: 357-364, 1961
- Morgan CN: Trends in the treatment of tumours of the rectum, retosigmoid and left colon. *JR Coll Surg Edinb* 1: 112-125, 1955
- Labow AB, Salvati EP, Rubin RJ: Suture line recurrence in carcinoma of the colon and rectum. *Dis Colon Rectum* 18: 123-125, 1975
- Bacon HE, McGregor JK: Prevention of recurrent carcinoma of the colon and rectum. *Dis Colon Rectum* 6: 209-214, 1963
- Docherty JG, McGregor JR, Purdie CA et al: Efficacy of tumoricidal agent in vitro and in vivo. *Br J Surg* 82: 1050-1052, 1995
- Park KGM, Scott W, Chetty U et al: The activity of locally applied cytotoxics to breast cancer cells in vitro. *Ann R Coll Surg Engl* 73: 96-99, 1991
- 安藤邦彦, 舟橋啓臣, 加藤伸幸ほか: MCF-7ヒト乳癌細胞におけるヨードの腫瘍細胞増殖抑制効果. *日癌治療会誌* 30: 628-635, 1995
- Rackur H: New aspects of mechanism of action of povidone-iodine. *J Hosp Infect* 6: 13-23, 1985
- Berkelman RL, Hilland BW, Anderson RL: Increased bactericidal activity of dilute preparations of povidone-iodine solutions. *J Clin Microbiol* 15: 635-639, 1982
- Zamora JL, Price MF, Chuang P et al: Inhibition of povidone-iodine's bactericidal activity

- by common organic substance: An experimental study. *Surgery* 98 : 25—29, 1985
- 22) Anderberg B, Enblad P, Sjodahl R et al: Recurrent rectal carcinoma after anterior resection and rectal stapling. *Br J Surg* 70 : 98—100, 1983
- 23) Harst PA, Prout WG, Kelly JM et al: Local recurrence after low anterior resection using the staple gum. *Br J Surg* 69 : 275—276, 1982
- 24) Davidson JT, Clay LD III, Umanoff M et al: Cancer recurrent at stapled colon incision. *N J Med* 87 : 297—298, 1990
- 25) O'wyer P, Ravikumar TS, Steele G Jr: Serum dependent variability in the adherence of tumor cells to surgical sutures. *Br J Surg* 72 : 466—469, 1985
- 26) Gertsch P, Baer HU, Kraft R et al: Malignant cells are collected on circular staplers. *Dis Colon Rectum* 35 : 238—241, 1992
- 27) Zamora JL: Povidone-iodine and wound infection. *Surgery* 93 : 121—122, 1984
- 28) Nelson N, Palmes ED, Park CR et al: The absorption, excretion, and physiological effect of iodine in normal human subjects. *J Clin Invest* 26 : 301—310, 1947

The Tumoricidal Efficacy of Povidone-Iodine for Exfoliated Colorectal Carcinoma Cells in the Fresh Operative Specimen

Manabu Takata

Department of Surgery, Showa University School of Medicine
(Director: Mitsuo Kusano)

The aim of the study is to demonstrate a tumoricidal effect of povidone-iodine (PVP-I) against intraluminal exfoliated carcinoma cells in specimens with colorectal malignancy. As a preliminary experiment, cultured human colon cancer cells added to PVP-I solution were centrifuged on a Nycodenz linear density gradient column. Viable tumor cells were revealed to be concentrated in a band at the top while nonviable tumor cells were at the bottom. Based on the results, the same technique was applied to the exfoliated colorectal carcinoma cells in surgical specimens. Eight operative specimens of colorectal cancer were irrigated with tissue culture medium and the resulting cell specimens were centrifuged on the same column as the previous study. In all eight specimens, tumor cells were recovered with a median percentage viability of 86 for proximal lumen specimens and 67 for distal lumen specimens. Then, another 16 operative specimens were irrigated. Half of the cell specimens were added to PVP-I solution. The viability of tumor cells was not impaired in the 0.5% PVP-I group, whereas in the 5% PVP-I group, the median percentage viability was 0 in both lumen specimens. PVP-I had tumoricidal efficacy and bowel irrigation with this agent may reduce the local recurrence of colorectal cancer.

Reprint requests: Manabu Takata Department of Surgery, Showa University School of Medicine
1-5-8 Hatanodai, Shinagawa-ku, Tokyo, 142 JAPAN