

## 甲状腺乳頭癌における ground glass nuclei の出現に関する研究 —包埋標本作成時における非加熱の影響について—

清野 徳彦

甲状腺乳頭癌の組織学的な特徴的所見の一つとして ground glass nuclei (GGN) がある。この GGN はパラフィン包埋標本では高頻度に出現するが、細胞診や凍結切片標本ではその出現は極めて稀であるといわれている。したがって、GGN は固定あるいは包埋過程によって生じる一種の人工産物の可能性が示唆される。著者は、乳頭癌の GGN の出現に関しては固定期間が長いほど、ホルマリン液の濃度が高くなるほど、高頻度に出現し、複合固定液で固定された組織では高頻度に出現することを既に報告している。本論文では、パラフィン包埋法による切片作成時の加熱が GGN の出現に影響を及ぼしているか否かを検討する目的で、永久標本作成にあたり加熱処理を行わないセロイジン包埋法を試み、GGN の出現に関する検討を行った。

甲状腺乳頭癌では、非加熱のセロイジン包埋法を用いても GGN は出現した。GGN の出現は加熱による結果ではないことが判明し、包埋法の如何に拘らず乳頭癌にみられる特徴的な所見であると思われた。

(平成 7 年 3 月 18 日採用)

## The Effect of Celloidin Embedment on Formation of Ground Glass Nuclei in Papillary Carcinoma of the Thyroid

Tokuhiko KIYONO

The presence of ground glass nuclei is accepted as a major histopathologic criterion for the diagnosis of papillary carcinoma. However, they appear only in specimens in paraffin-embedded histological sections but not in frozen sections or cytological specimens. This has led to the conclusion that ground glass nuclei are likely to be an artifact of fixation and/or embedding. To determine whether or not the presence of ground glass nuclei is influenced by heat, a method not using heat, namely, a celloidin embedding method was used for this study. Ground glass nuclei also appeared in celloidin embedded histological sections. No statistically significant differences were found between tissues embedded in paraffin and those embedded in celloidin in the incidences of pseudoclear nuclei and ordinary nuclei. However, a statistically significant difference was noted in the incidence of clear nuclei ( $p < 0.025$ ). The number of the clear nuclei was very small. In conclusion, it was proved that the appearance of ground glass nuclei is not influenced by heat. Therefore, they seem to be a characteristic histological feature inherent to the tumor

cell. (Accepted on March 18, 1995) *Kawasaki Igakkaishi* 21(1): 21-25, 1995

**Key Words** ① Papillary carcinoma of the thyroid ② Ground glass nuclei  
③ Paraffin embedding ④ Celloidin embedding

## 緒 言

甲状腺乳頭癌のパラフィン包埋による永久標本では ground glass nuclei (以下 GGN と略す) が高頻度に出現するが、細胞診や凍結切片標本ではその出現は極めて稀であるといわれている<sup>1),2)</sup>. その原因としてはパラフィン包埋法 (以下 P 法と略す) による切片作成時の加熱が影響を及ぼしていることも考えられる. そこで、永久標本作成にあたり加熱処理を行わないセロイジン包埋法 (以下 C 法と略す) を試み、GGN の出現に関する検討を行った.

## 方法および対象

対象は甲状腺乳頭癌 9 例である. 手術時切除された甲状腺癌組織を 20%ホルマリン液に固定し、2 つに切断した. その一方の組織を用いて、C 法で標本を作成した. C 法は、全行程が常温下で行われる. すなわち、組織片を無水エーテル・アルコール等量混合液に 12~24 時間保存した後、2%セロイジン液に 1~2 週間、4%セロイジン液に 1~2 週間、8%セロイジン液に 1~2 週間浸透させ、エーテル・アルコールを蒸発させてセロイジン液を濃縮、硬化させ、その組織を 70%アルコール液に保存した後、薄切し hematoxylin and eosin (HE) 染色を行った. また、他方の組織を用いて通常の P 法を行った. この両者の乳頭癌組織の核を既に発表した論文と同様、clear nucleus (以下 CN と略す)、pseudoclear nucleus (以下 PN と略す)、ordi-

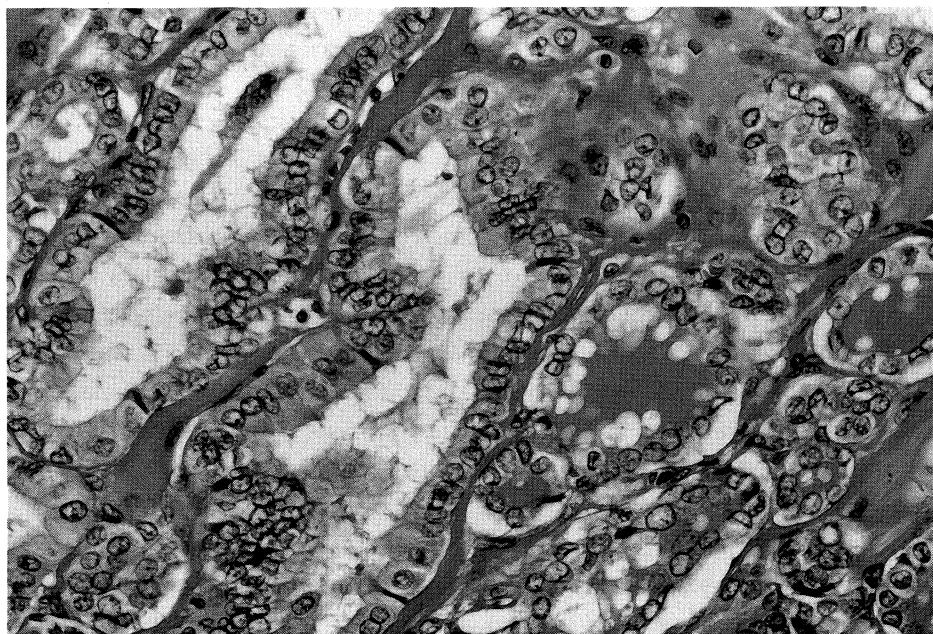


Fig. 1a. Microscopic findings show the presence of ground glass nuclei in papillary carcinoma using the paraffin embedding method. [hematoxylin and eosin staining, ( $\times 100$ )]



24.47±9.75% (mean±S.D.) で、最も出現頻度の低い症例で7.2%、最も高い症例で42.4%であった。そして、ON の出現頻度は75.29±9.89% (mean±S.D.) で、最も出現頻度の低い症例で57.0%、最も高い症例で92.8%であった。

一方、C法においてはCNは全く認められず、PNの出現頻度は、17.2±12.1% (mean±S.D.) で、最も出現頻度の低い症例で4.0%、最も高い症例で34.4%であった。また、ONの出現頻度は82.8±12.1% (mean±S.D.) で、最も出現頻度の低い症例で65.6%、最も高い症例で96.0%であった。

両法間のCNの出現頻度については、統計学的に有意の差が認められたが ( $p < 0.025$ )、PNおよびONの出現頻度には統計学的に有意の差は認められなかった。

## 考 察

P法の欠点として組織片を高温パラフィン槽へ浸透させるために組織の収縮が著しいことがあげられる。パラフィンは通常60°C前後の融点を持ち、組織片はこのパラフィン槽へ通常3~8時間程度浸透させた後にパラフィンブロックを作成しミクロトームで薄切される。

一方、セロイジンは包埋過程が常温下で行われ加熱の影響を受けることはない。すなわち、セロイジンは適度にニトロ化されたセルロースで分子鎖が長く、大きいために組織内への浸透が遅く、組織の強い収縮と硬化が生じにくいといわれている<sup>4)~7)</sup>。また、欠点としては、パラフィン包埋のように薄切できず、12 μm程度の厚い標本しか作成できないため観察が難しい。本研究で用いた薄切標本も厚く薄切された部分があり、核を観察する際は同部を避けて行った。

## 文 献

- 1) 清野徳彦：甲状腺乳頭癌における ground glass nuclei の出現に関する研究—パラフィン包埋標本における各種固定液の影響について—。川崎医学会誌 20：67—76, 1994
- 2) 坂本穆彦編著：取扱い規約に沿った腫瘍鑑別診断アトラス甲状腺。東京，文光堂。1991，pp 32—33

甲状腺乳頭癌におけるGGNの出現は、Hapkeらによると永久標本では出現するが、細胞診、凍結切片標本では殆んど出現しないと報告されている<sup>3)</sup>。著者のP法による甲状腺乳頭癌のGGNの出現頻度はC法よりも高いが、双方においてGGNの出現をみたことは、加熱の如何に拘らず甲状腺乳頭癌の特徴的なものであることを示唆している。したがって、GGNは甲状腺乳頭癌の診断基準の1つとして重要であると思われた。

また、P法およびC法のCNの出現頻度に関して統計学的に有意の差が認められたが、P法のCNの出現頻度が平均0.24%と極めて少数でありC法においては全く認められなかったため、統計学的な意義は低いと考えられた。また、GGNによくみられるPNの出現頻度に関しては統計学的に有意の差が認められなかった。したがって、GGNの出現に関しては加熱の影響はほとんどみられないことが示唆された。

## 結 語

加熱処理を行う従来のP法、および非加熱のC法を用いてもGGNは出現し、GGNは甲状腺乳頭癌の固定標本にみられる特徴的な所見である。

稿を終えるにあたり、終始懇切なるご指導とご校閲を賜りました川崎医科大学甲状腺外科学教室 原田種一教授に深甚なる謝意を捧げるとともに、ご指導、ご協力をいただきました川崎医科大学病理学教室 真鍋俊明教授、広川満良講師、甲状腺外科学教室 片桐 誠講師に深く感謝いたします。また、標本作成にあたり組織・電子顕微鏡センターの若林かずみさん、吉田陽子さんに深謝いたします。そして、研究にご協力いただきました内分泌・甲状腺外科学教室各位に感謝いたします。

- 3) Hapke MR, Dehner LP : The optically clear nucleus. A reliable sign of papillary carcinoma of the thyroid? *Am J Surg Pathol* 3 : 31-38, 1979
- 4) 春日 孟, 松原 修著 : 病理学 / 病理組織細胞学. 東京, 医歯薬出版. 1987, pp 257-258
- 5) Lillie RD : Embedding methods. *In* *Histopathologic Technic and Practical Histochemistry*, eds by Lillie RD, Fullmer HM, New York, McGraw-Hill. 1976, pp 91-93
- 6) 渡辺陽之輔, 坂口 弘, 細田泰弘 : 包埋法. 病理組織標本の作り方, 慶応義塾大学医学部病理学教室編, 第6版. 東京, 医学書院. 1986, pp 41-43
- 7) Culling CFA : *Handbook of Histopathological and Histochemical Techniques*. 3rd ed. London, Butterworth. 1974, p 74