短 報

迅速細胞転写法の検討

東海大学医学部附属病院病理検査技術室¹⁾, 東海大学医学部総合診療系病理診断学²⁾藤田保健衛生大学医学部第一病理学³⁾伊藤 仁¹⁾ 宮嶋 葉子¹⁾ 長村 義之²⁾ 堤 寛³⁾

I. はじめに

細胞診標本や組織標本上の細胞・組織を他のスライドガラスに移す方法を「細胞転写法」という。この方法を用いると、1枚の標本から複数のスライドガラスへの分割転写が可能のため、おもに細胞診領域における免疫細胞化学を中心に応用されている^{1~5)}。細胞転写法は、①キシレン中でのカバーガラスの剥離、②封入剤の塗布、③封入剤の硬化、④温水中での硬化封入剤の軟化、⑤ビニール状の硬化封入剤膜の剥離、⑥はさみによる分割・トリミング、⑦温水中でのシランスライドへの貼りつけ、⑧乾燥、⑨キシレンによる脱樹脂の過程で行われる。従来の報告では、封入剤の硬化に2時間~overnightを要し、迅速性に欠けるのが短所だった。今回われわれは、細胞転写の迅速化を目的に検討を行った。

II. 対象および方法

体腔液の細胞診標本 (Papanicolaou 染色) およびホルマリン固定パラフィン切片の組織標本 (HE 染色)

A study of quick "cell transfer" technique

Hitoshi ITOH¹⁾, C.T., C.M.I.A.C., Youko MIYAJIMA¹⁾, C.T., I.A.C., R.Yoshiyuki OSAMURA²⁾, M.D., F.I.A.C., Yutaka TSUTSUMI³⁾, M.D.

¹⁾Division of Diagnostic Pathology, Tokai University Hospital

²⁾Department of Pathology, Tokai University School of Medicine

³⁾Department of Pathology, Fujita Health University School of Medicine

論文別刷請求先 〒259-1193 神奈川県伊勢原市望星台 東海大学医学部附属病院病理検査技術室 伊藤 仁

平成13年11月22日受付

平成14年4月12日受理

を対象にした。封入剤としてはマリノール (粘度550 cp, 武藤化学) を用い、硬化にはパラフィン切片伸展器を利用した。加温軟化には、標本を温水 (50~60℃ 程度) 50mlを入れた染色バットに浸し、15分間室温に放置した。古い標本のカバーガラス剥離には、60℃ 孵卵器で加温したキシレンを用いた。

III. 結 果

手順を Table にまとめた。キシレンで2倍に希釈してよく攪拌したマリノール1mlをカバーガラスのはずされた標本上に塗布し、80℃ のパラフィン切片伸展器を用いて30分間硬化させた。この手順により、細胞診標本、組織標本ともに約45分で剥離可能であった (カバーガラス剥離のための時間を除く)。剥離した封入剤を適宜分割・トリミングした後、お湯に浸しつつ別のスライドガラス (シラン処理スライド) に貼りつけ、ビニール状の封入剤膜の上からティッシュやキムワイプで押しつけて空気や余分な水分を吸

Table Cell transfer method procedure

- ① Dilute Malinol with an equal volume of xylene.
- ② Cover the glass slide after detaching the cover slip with 1 ml of diluted Malinol
- ③ Place Malinol solidified on an 80℃ hot plate for 30 min.
- ④ Dip the solidified thin membrane into 60℃ water for 15 min to soften it.
- ⑤ Peel off the softened Malinol membrane with forceps.
- ⑥ Trim the membrane into pieces
- ⑦ Place trimmed pieces on new silane-coated glass slides in warm water.
- ⑧ Remove excess air bubbles and water using tissue paper or a similar material, e.g., Kimwipes.
- ⑨ Dry glass slides on an 80℃ hot plate for 30 min.

Photo. 1 The glass slide of the cytology specimen covered with a thin solidified Malinol membrane.

いといったのちに, 80℃ のパラフィン切片伸展器で15分乾燥すると, 計約1時間で細胞転写が完了した(Photo. 1).

希釈しないマリノールを用いる場合は, 1ml では硬化に時間がかかりすぎるため, マリノールを半量(500 μ l) にしなければならなかった. この場合, スライドガラスを前後左右上下に動かし, マリノールを薄くひきのばしたが, マリノールの粘度が高く, 量が少ないため, スライドガラス上でよく攪拌しないと全面にうまく塗布されなかった.

IV. 考 察

細胞分割転写法は, 細胞診分野では体腔液細胞診における悪性中皮腫と腺癌の鑑別など, 多数のマーカー検索を必要とする場合にしばしば応用される. また, 婦人科スメアや穿刺検体でカバーガラスからはみだした部分のある場合は, カバーガラスをはずさずにそのはみだした部分のみを転写して, 特殊染色することが可能である. パラフィンプロックが入手不可能な場合の組織切片の分割や破損スライドガラスの修復にも有効である. この細胞転写法は, 免疫組織化学だけでなく, in situ hybridization や電子顕微鏡的検索にも応用できる^{3,4)}.

従来の細胞転写法は, 封入剤の硬化に2時間～overnightの時間を要し, 迅速性に欠けるのが短所であった¹⁻⁵⁾. 今回の方法を用いた場合, 封入剤の塗布から細胞転写後乾燥までが1時間で完了する. 従来の封入剤を厚く塗布する方法^{3,4)}では, 封入剤は短時間で硬化しない. 今回の工夫点は, キシレンでマリノー

ルを2倍希釈することによって封入剤を薄く塗布すること, 熱を加えることで短時間で封入剤を硬化させることにある. 硬化時間は, 硬化温度, 封入剤のキシレン含有量とスライドガラス面に塗布された封入剤の厚さに左右される. 希釈しないマリノールを半量(500 μ l)塗布しても同様に可能だが, この場合, スライドガラス全面への均一な塗布に難点があった.

カバーガラスの剥離も時間を要す因子である. とくに, 封入してから時間の経った標本では, カバーガラスがはずれにくい. 加温したキシレンを利用し, カバーガラスをガラスペンなどで傷つけてキシレンの浸透を助けると, 短時間でカバーガラスが剥離する.

同様の操作は, 他の封入剤を用いても使用可能と考えられるが, その場合, 粘度, キシレン含有量が異なるため, 希釈や時間などの条件に若干の違いがあると想定される.

Abstract

Cell transfer is required to immunostain multiple antigens on cytology specimens. A variety of resins is used but the conventional sequence usually takes a couple of days to complete transfer. We created a quick method by covering the slide glass with a small volume of diluted Malinol in a process that is completed within 1 hour if the cover slip is peeled off the glass slide. Appropriate trimming of the thin solidified Malinol membrane into several pieces yields multiple specimens for immunocytochemical reaction, using a single cytological material.

文 献

- 1) Brown, G.G., Tao, L.C. Restoration of broken cytology slides and creation of multiple slides from a single smear preparation. *Acta Cytol* 1992; 36: 259~263.
- 2) Sherman, M.E., Jimenez-Joseph, D., Gangi, M.D., Rojas-Corona, R.R. Immunostaining of small cytologic specimens: Facilitation with cell transfer. *Acta Cytol* 1994; 38: 18~22.
- 3) 広川満良, 有安早苗, 鐵原拓雄, 岩知道伸久, 鞍津輪優子. マウントクイック封入剤を用いた細胞転写法の免疫組織化学および電子顕微鏡的検索への応用. *日臨細胞誌* 1995; 34: 1236~1237.
- 4) 大野綾子, 喜納勝成, 岡崎哲也, 小谷津純一, 石和久. マリノール封入剤を用いた細胞転写法. 免疫組織化学的検索およびISH法への応用. *日臨細胞誌* 1996; 35: 657~658.
- 5) 久住利香, 鳥居良貴, 山本格士, 名方安夫, 八十島仁. 封入剤を用いた細胞転写法の検討. *日臨細胞誌* 2001; 40: 91~92.