

健康食品中に混入された甲状腺組織末の光学顕微鏡による観察

坂本 義光*, 湯澤 勝広*, 小 懸 昭夫*, 上 村 尚*

Histological Observation of Thyroid Tissue Powder Added to Health Food

Yoshimitsu SAKAMOTO*, Katsuhiko YUZAWA*, Akio OGATA* and Hisashi KAMIMURA*

Keywords: 健康食品 health food, 甲状腺末 thyroid tissue powder, 塗抹標本 smear preparation, パラフィン包埋標本 paraffin embedded preparation

はじめに

平成 14 年, ダイエットを目的とした中国製健康食品による頭痛, 肝炎等の健康被害が報告された。これらの健康食品からは化学分析によってニトロソフェンフラミンや甲状腺ホルモンが検出され, 甲状腺ホルモンの供給源として乾燥甲状腺末の混入が考えられた。乾燥甲状腺は医薬品として用いられているが, 健康食品への使用は許可されていない。健康食品中に含まれる甲状腺ホルモンに関して, 化学分析に加えて甲状腺組織そのものを確認することは検査結果の確証性をより高めることができるものと考え, 今回, 光学顕微鏡(以下, 光顕)による観察を試みた。

医薬品としての乾燥甲状腺粉末については日本薬局方に確認試験法が記載されている¹⁾。この中で甲状腺末をホルマリンで固定後ヘマトキシリン・エオジン染色(HE染色)を行い, 顕微鏡で観察するとしているが, 観察するための具体的な標本の作製法は記載されていない。また健康食品等の粉末試料に含まれている甲状腺末の確認方法については定まった方法がないのが現状である。

今回は粉末状の試料に混入された組織末を光顕的に確認するために, 試料そのものをスライドグラス上に貼付した塗抹標本と, 通常組織標本と同様に試料をパラフィンで包埋後薄切した, いわゆるパラフィン切片とを作製し, 局方の確認試験方法を参考にして, いずれも HE 染色を行い観察した。

試料および標本作製法

試料: 中国製健康食品(茶素減肥を用いた)は, カプセルに充填された数種の素材の混合物で淡褐色~褐色, 形状の不揃いな粉末である(以下, 検体)。作製した観察用標本における甲状腺組織の状態を比較する目的で陽性対照として局方品の乾燥甲状腺(以下, 局方品)を用い, 検体と同様の方法で観察用の標本を作製した。

標本作製法: 今回は観察用標本として 1)塗抹標本と 2)パラフィン包埋切片を作成し, ヘマトキシリン・エオジン染色を施し観察を行った。スライドグラスはいずれも免疫染

色に用いられる剥離防止剤塗布済みのスライドグラス(MAS コ-ト付き, 松波硝子製)を用いた。

塗抹標本: スライドグラス上に, 試料を塗抹する範囲としてほぼその 2/3 程度の面積を免疫染色用パップペン(DAKO, JAPAN, Co. Led)でマ-クをつけた。これにより試料懸濁液の分散を防ぎ, 一定の面積に塗抹することができる。マ-クした部分に蒸留水に懸濁させた試料を, スポイトで滴下, 揺らしながら均一に拡げ, 充分乾燥させ塗抹標本を作製した。

2)パラフィン包埋切片: 通常組織標本作成に使用するティッシュ・ティク包埋皿(サクラ精機株)の底部中央にマイクロスパ-テルで適当量(2~3匙)の試料を置き, その上を粒状パラフィン(メルク社製, HISTOSEC)で被いながら包埋皿を満たし, 55-60 の恒温槽内でパラフィンを溶解させた。一昼夜恒温槽内に放置後, 更にその上から溶融させたパラフィンを静かに継ぎ足しティッシュ・ティク包埋用カセット(サクラ精機株)を載せ冷却し, パラフィン包埋ブロックを作製した。パラフィン包埋ブロックの薄切は通常組織標本作成に用いる滑走式のマイクロト-ム(大和光機工業株)及び替え刃式マイクロト-ム刀(フェザ-株)を使用して行った。薄切は通常動物組織の場合と同様 4µm の厚さで行ったが 試料の性状によっては薄切しにくいものもあり, その場合は 8~10µm 程度の厚さで行った。薄切の際には標本ブロック加湿器(サクラ精機)を用い, ブロック表面にミストを吹きかけながら行った。水浴槽に浮かべたパラフィン切片をスライドグラスにのせ 50-60 に加温した伸展器上で一昼夜伸展, 乾燥した。

染色法: 一般的な染色法であるヘマトキシリン・エオジン(HE)染色²⁾を行った。塗抹標本では流水で標本を水に馴染ませた後に, またパラフィン切片では定法²⁾どおりキシレンによる脱パラフィン及びエタノ-ルによる脱キシレン操作, 流水水洗の後に染色操作を行った。染色はヘマトキシリン溶液による核染色, 流水水洗及び色出しの後, エオジン染色を行った後, エタノ-ルによる脱水, キシレンによる透徹操作を行い封入剤(ピオライト, 応研商事)を用い

* 東京都健康安全研究センター - 環境保健部病理研究科 169-0073, 東京都新宿区百人町 3-24-1

* Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan

カバ - グラスを載せ永久標本を作製した。

結果及び考察

塗抹標本及びパラフィン切片による染色結果を写真 1 (a~d) に示した。

塗抹標本：局方乾燥甲状腺ではエオジンで赤く染色されたる胞コロイドにヘマトキシリンで青紫に染色されたる胞上皮細胞の核が密に集まった組織片及び組織塊として認められた。組織が小塊状で厚さがあるため甲状腺に特有なる胞構造は観察しにくい、組織片によっては規則的に配列した核を有する胞構造の一部が認められた(写真 1-a, 矢印)。検体の塗抹標本においても同様に不明瞭ではあるが胞構造の残存した大きな組織片(写真 1-b, 矢印)が見られた。これらの組織片ではいずれも顕微鏡の焦点を動かすことによって、ろ胞構造がより明らかに観察されることから甲状腺の破砕片と確認された。また局方品に見られる小さな組織片は細胞核とコロイドの存在によって、ろ胞構造の一部であることがわかるが、検体試料では組織片が小さくなると検体中に混ぜられている他の構成素材の破砕片との区別がつきにくかった。従って検体の塗抹標本において甲状腺組織として明瞭に確認できるためには、ほぼ完全な形態が保たれたる胞が 1~2 個程度残存している大きさの組織片が観察には適当であり、組織片がそれ以上大きくなると組織構造が分かり難くなるものと思われる。また塗抹標本による観察では、他の構成成分と区別するために、ある程度の組織観察のための経験が必要である。

パラフィン包埋切片：局方品及び検体ともに、上皮細胞とコロイドからなる数個のろ胞構造が完全な形で残存するやや大きな組織片や、核とエオジン染色性のコロイドが残ったる胞の一部を示す小さな組織片が観察された(写真 1-c, d)。これは塗抹標本で形が大きいため内部構造が確認しにくかった組織塊が薄切されることによって、ろ胞がその横断切片として、より明らかに観察できることを示している。また、特に検体のパラフィン切片では完全なる胞構造が残っていない小さな組織片でも上皮細胞の核とエオジンで赤く均質に染色されるコロイドの存在から甲状腺組織の破砕片であることが確認された。

今回の観察結果で局方品では検体に比べ明瞭なる胞構造が多く残った組織片が少なく、またより細かい破砕片が多く見られた(写真 1-C)。局方甲状腺は食用獣の甲状腺を乾燥、粉末化したものであるが、検体に混入されている甲状腺末に比べ破砕がより充分に行われていることを示していると思われる。

今回試みた標本作製法のうち塗抹標本で見られた小塊状の組織片には顕微鏡の焦点を動かすことによって、ろ胞構造が認められるので、観察に慣れてくればこの方法で甲状腺組織を確認することが出来るが、パラフィン切片では組織片に見られるろ胞構造がたとえその一部であっても、明らかに甲状腺組織と確認できる点で検査用標本としては有用であると思われる。特に局方乾燥粉末と異なり、健康食

品などの試料ではろ胞構造の一部が残っている小さな組織片は、塗抹標本では他の構成成分と見分けにくいこともあって、パラフィン切片による観察の方がより確実性が高いものと考えられる。

ホルマリン固定について：日本薬局方における乾燥甲状腺の確認試験では試料のホルマリン固定を行っている。今回塗抹標本において局方品及び検体について、固定の有無を比較したが標本中の組織の状態に両者で明らかな差はなかった(結果は示していない)。これは甲状腺組織末作製の過程で乾燥や粉碎により組織のタンパク成分の変性が充分進んでいるため固定の必要性はないものと思われる。

ま と め

健康食品などの粉末状試料に混入された甲状腺組織を顕微鏡により観察するための組織標本の作製方法を検討した。粉末状試料について塗抹標本とパラフィン包埋切片を作製し、比較検討した。塗抹標本では試料に厚みがあるため甲状腺特有のろ胞構造を確認しにくかったが、パラフィン包埋切片とすることにより組織の状態が良好に保たれていなくても、ろ胞構造が明らかに認められ、また混在する組織片が小さなものでも甲状腺組織の一部であることを確認することが可能であった。

文 献

- 1) 厚生労働省：第十四改正日本薬局方，854-855，2001
- 2) 染色法のすべて：月刊 Medical Technology 別冊 P2-7，1988，医歯薬出版社，東京

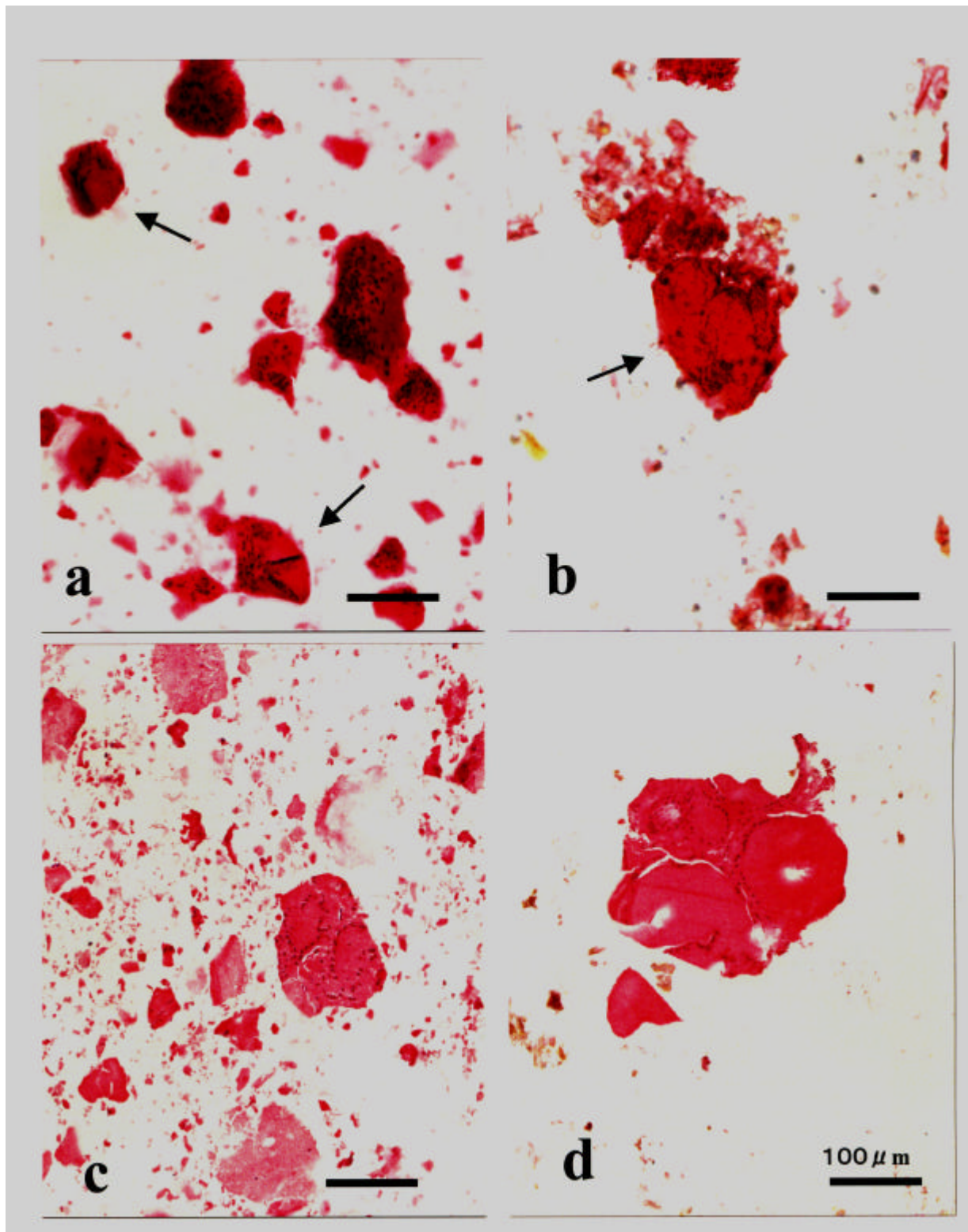


写真1．塗抹標本（a．局方乾燥甲状腺組織，b．健康食品中の甲状腺組織）及び
パラフィン包埋切片（c．局方乾燥甲状腺組織，d．健康食品中の甲状腺組織），HE染色