

# 수중 고정액의 상피세포에 대한 고정효과에 관한 연구.

서울대치과대학병원

홍            란

## A study on the fixing effects of several fixatives on oral epithelial cell.

Ran Hong

— College of dentistry. Seoul National University

### (Abstract)

The author thought that the results of cytologic tests could be changed according to the fixative methods.

So the author has studied several methods of fixing exfoliative cells collected from normal adult cheek mucosa with a solution of equal parts of ether and 95% ethylalcohol, 95 ethylalcohol and Isoprophyl alcohol, and compared the results with each other.

The results were as follows;

The effects of fixation, and staining efficiency of nucleus and protoplasm are similar in each method, but the staining efficiency of cytoplasm and the conservation of cytoplasmic membrane were best in 95% ethylalcohol.

### I. 서    론

치과 영역에서 pap's smear는 각 화도에 의한 구강점막의 건강상태와 악성종양의 조기 진단 방법으로써 다자도로 이용되고 있다.<sup>1,2,3,4,5,6</sup> 이러한 박리세포학적 방법은 점막의 표층 변화 검사에만 국한되나 생검시에 부수되는 여러가지 조직이 필요없고 또한 간단한 방법으로 동일부위의 피검체를 반복 채취할 수 있을 뿐 아니라 환자에게 손상을 거의 주지않고 고정 및 염색조작 시간이 짧기 때문에 각화도 관찰 및 악성도 유무의 관찰에 많이 이용되는 방법중의 하나이다. 더욱이 치과 영역이나 산부인과 영역에 발생하는 암종의 대부분은 편평 상피암으로써 점막의 표층에 발생하므로 조기 진단 방법으로 흔히 이용되고 있어 많은 연구 보고가 있다. 그런데 박리세포학적 방법으로 세포의 악성도나 각화도를 연구함에 있어서 표본제작(도말표본 또는 액성표본), 고정, 염색, 판독 등 여러 과정중 어

\* 본 논문의 일부는 1977년도 서울대 치대 부속병원 임상연구비로 이루어졌음.

는 한 가지라도 간과 할수는 없으나 검사실에서 근무하는 저자는 우선 고정액의 종류에 따라서 박리세포의 외형이나 염색성 등에 영향이 있는 것으로 생각되어 이에 대한 연구를 한 바 있어 보고하는 바이다.

## II. 연구대상 및 방법.

연구대상은 서울대학교 치과대학 부속병원에 내원한 환자 중에서 임의 추출한 50명을 대상으로 하였으며 대상자들은 검사물 채취전에 식수로 함소 시킨 후 스파츨라를 사용하여 협점막을 긁어 박리세포를 채취하여 각각 3개의 slide glass 에 얇게 편 다음 건조되기 전에 고정액 ① 95 % Ethyl alcohol 과 ether 의 동량혼합액 ② 95 % ethyl alcohol ③ Isopr-ophyl alcohol 용액에 각각 넣어 최소한 30분 이상 고정시킨 후 papanicolaou 염색법으로<sup>1)</sup> 염색한 후 검경 하였다.

## III. 연구성적

papanicolaou stain 에서 세포핵이나 Chromatin 의 고정이나 염색성은 95 % ethyl alcohol, 95 % ethyl alcohol 과 ether 의 동량 혼합액 및 Isoprophyl alcohol 중 어느것에 유사하게 나타났으나 세포막의 보존성이나 세포질의 염색성은 95 % Ethyl alcohol 에 고정한 표본에서 가장 양호하였다.

## IV. 총괄 및 고안

살아 있는 조직이나 세포를 그대로 장시간 관찰하기는 곤란하므로 세포의 동적 과정을 신속히 중단시켜 원형질의 구조적 및 화학적 변화를 최소한으로 줄이므로써 살아있을 때와 같은 상태로 보존하려는 고정과정은 표본제작시 필히 거치는 경로이다. 일반적으로 조직이나 세포는 고정을 하므로써 첫째 세포의 자가용해와 세균에 의한 부패를 억제 하거나 방지할 수 있고, 둘째 조직을 응고, 경화시키며 세포의 구성성분을 불용성으로 만들고, 셋째 탈수과정에서 손상을 방지할 수 있고, 넷째 염색을 용이하게 하는등 장점도 있으나 고정전에는 없었던 구조가 인공산물로 생기게 되어 살아있는 세포와는 상당히 다른 상태를 나타내는 단점도 있다. 현재 완전무결한 고정은 할수 없으나 조직을 고정하는데는 일반적으로 단백질이나 어떤 종류의 복합체를 침전시키는 고정제 단독으로나 몇 가지를 혼합하여 고정액으로 사용하는데 예를 들면 formaldehyde, Mercuric chloride, potassium dichromate, chromic acid, picric acid, Osmium tetoxide, acetic acid, ethyl alcohol, acetone, trichloracetic acid, glutaraldehyde 등이 있고<sup>2)</sup> 조직액, 즉 기관지 세척액, 뇨, 객담, 늑막액, 복막액, 같은 체액성 표본을 고정하는데는 50 % Ethylalcohol 용액이 있고 pap's smear 의 고정은 수년간에 걸쳐서 papanicolaou 가 추천한 95 % ethyl alcohol 과 ethr 의

동량 혼합액이 fixative of choice 였다. 고정액의 선택은 연구목적, 조직의 종류 및 크기 절단방법, 사용할 염색법 등을 고려하여야 하는데, 일반적으로 10% Neutral Formalin 은 滲透性도 강하고 여러 종류의 조직에 폭넓게 사용될 수 있는 장점이 있고, 한편 Mc Gee Rsssel 은 alcohol 만으로는 조직의 변형이 야기되나, Dahl 은 95% 에 고정하며 다른 고정제 보다 염색성이 좋다하였다. 그런데 pap's smear 의 고정은 95% alcohol 과 ether 의 동량 혼합액이 흔히 사용되었으나 ether 이 휘발성이 강하며 실험실에서 화재의 위험성이 높아 95% ethyl alcohol 단독으로도 훌륭한 고정효과를 얻었다'. 이 고정제는 모든 도말표본에 적당하다. 즉 구강점막의 도말표본 뿐 아니라 vaginal, cervical and endometrial aspiration smears, prostate smears, breast smear 및 aspiration biopsy smear 를 염색하기전 15분 이상 수주일간 고정해도 표본에 손상이 거의 없는 것으로 되었으나 값이 비싸다는 단점이 있다.' 또한 저자의 연구에 의하면, 위에서 언급한바와같이 95% ethyl alcohol 에 고정한 표본이 Isoprophyl alcohol 이나 95% ethyl alcohol 와 ether 의 동량 혼합액에 고정한 표본에서 보다 세포의 보존이나 염색성이 일반적으로 양호한 결과를 보였다. 그리고 장거리에 있는 검사실에 표본을 우송할 때는 spray-cyte, Cyto-Fixer, pro-Fix 등 coating fixative 를 사용하면 편리하다 하나 저자는 아직 취급해보지 못하였다.

## V. 결 론

저자는 서울대학교 치과대학 부속병원에 내원한 환자 50 명을 대상으로 협점막에서 채취한 박리세포를 각각 3 개의 slide 에 smear 를 만들어 ① 95% ethyl alcohol 과 ether 의 동량 혼합액, ② 95% ethyl alcohol ③ Isoprophyl alcohol 中 한가지에 30분 이상 고정한 후 papanicolaou 염색을 하여 상기 고정액의 효과를 관찰한 바 다음과 같은 결론을 얻었다. 세포핵, 핵질의 고정 및 염색성은 95% ethyl alcohol, 95% Ethyl alcohol 과 ether 의 동량 혼합액 및 Isoprophyl alcohol 중 어느것에 고정한 표본에서나 거의 유사하게 나타났다. 그세포질의 염색성이나 세포막의 보존성은 95% ethyl alcohol 에 고정한 표본에서 가장 양호 하였다.

## References

- 1) Alling, C. C., Secord, R. T. & Mass, A: A Technique for Oral Exfoliative Cytology, Oral Surg, Oral Med. & Oral Path., 17:668, 1964
- 2) Frankel, S., Reitman, s., and Sonnenwirth, A. C.: Gradwohl's Clinical laboratory methods and diagnosis, 7th Ed., The C. V. Mosby Company
- 3) Helsper J. T. & Sharp G. S.: Exfoliative Cytology for the Detection of Abnormal Oral Mucous Membrane and Early Carcinoma, Oral Surg., Oral Med & Pral Path., 17:175, 1963.
- 4) Koss, L. G.: Diagnostic Cytology, 2nd Ed., J. B. Lippincott Comp., 1968.
- 5) Miller, S. Soberman, A. & Stahl, S.: A Study of the Cornification of the Oral Mucosa of Young Male Adults, J. Dent. Res, 30:260, 1951.
- 6) Montgomery, P. W.: A Study of the Exfoliative Cytology of Normal Human Oral Mucosa, J. Dent. Res., 30:12, 1951
- 7) Montgomery, P. W. & von Haam, E.: A Study of Exfoliative Cytology in Patient with Carcinoma of the Oral Mucosa, J. Dent. Res., 30:398, 1951.
- 8) Neopola & Allenby: Examination of Suspicious Oral Lesions and Cancer Detection, J. A. D. A., 70:884 1965.
- 9) Sandler, H. C.: Errors of Cytodiagnosis Report of Follow-up of 1801 patients J. A. D. A. 72:851, 1966
- 10) Sandler, H. & Freund, H. R.: Exfoliative Cytology applied to the Detection and Treatment of Head and Neck Cancer, surgery, 46:479, 1959
- 11) Shapiro, B. L. Gorlim, R. J. Jordan, W. A.: The Role of Exfoliative Cytology in Oral Cancer Detection, Oral Surg., Oral Med. & Oral Path., 17:327, 1964
- 12) Silvciman S. & William A.: Comparison of Histologic, Cytologic, and Clinical Findings in Intra Oral Loukoplakia and Associated Carcinoma, Oral Surg., Oral Med., & Oral Path., 13:412, 1960
- 13) Tiecke, R. W. & Blozis, G. G. Oral Cytology, J. A. D. A. 72:855, 1966
- 14) 金用瑄: 口腔領域의 剝離細胞의 診斷學的 價值, Medical Digest, 3:1453, 1958
- 15) 李善炯: 架工義齒가 齒齦粘膜에 미치는 影響, 最新醫學: 7:89, 1964
- 16) 李勝雨, 金大英, 金周煥, 韓國人의 齒齦粘離細胞에 關한 研究, 中央醫學, 6:389, 1964
- 17) 서울대학교 齒科大學: 大學院合同講義錄 (Methodology for Dental Research), 1976年 9月~12月
- 18) 任東祐: 剝離細胞의 口腔診斷學的 價值에 關한 研究, 綜合醫學, 第11卷, 第12号 1966.

Fig. 1. Papanicolaou stain  
after fixing with equal parts  
of 95% ethyl alcohol and  
ether.

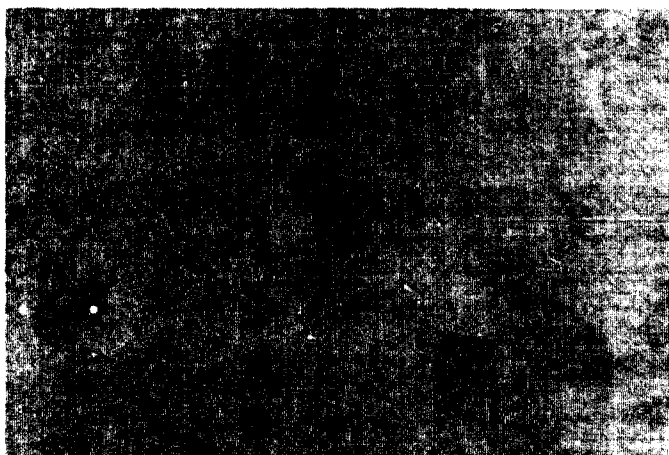


Fig. 2. Papanicolaou stain  
after fixing with 95% ethyl  
alcohol.

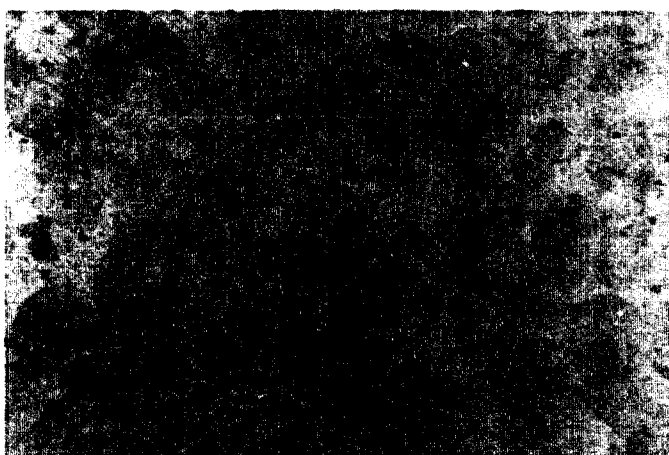


Fig. 3. Papanicolaou stain  
after fixing with 100%  
propyl alcohol.

