

組織化学・免疫染色における EDTA 脱灰液の検討

◎松田 竜太¹⁾、伊菅 大貴¹⁾、小山 芳徳¹⁾、大塚 喜人¹⁾
医療法人 鉄蕉会 亀田総合病院¹⁾

【目的】

組織標本作製において、固定液や固定方法による検討は数多く報告されているが脱灰液の種類や脱灰時間による詳細な検討の報告は未だ少ない。今回我々は、剖検例を用い EDTA 脱灰液の影響について検討を行ったので報告する。

【方法】

剖検骨髄検体を 20%中性緩衝ホルマリンで 72 時間固定後、3 社の EDTA (A 社, B 社, C 社)と比較対象として酸性脱灰液 2 種 (プランク・リクロ法、市販品)を用いて脱灰処理を行い各浸漬時間 (0.5, 1, 12, 24, 48, 72hr)の脱灰状況の比較を行った。加えてそれぞれに HE 染色、組織化学染色 (ASD-Giemza 染色)、免疫染色 (CD3, CD4, CD5, CD20)を行い、染色性について観察を行った。

【結果】

長時間の脱灰処理を行った場合、HE 染色では既報通り酸性脱灰液でエオジンの過染とエマトキシリンの染色性が低下したのに対し、EDTA 脱灰液ではいずれも見ら

れなかった。組織化学染色においては、12hr 処理を境に酸性脱灰液では、核の染色性が大きく低下し、また陽性細胞率も大きく低下していた。一方で EDTA 脱灰液では染色性の低下は観察されなかった。

免疫染色では、酸性脱灰液による処理で抗体の種類によっては陽性率が低下するものがあつた。また EDTA 脱灰液を用いた場合、陽性率の低下はなかつたが賦活操作後(95°C 20min TAE 緩衝液)による組織構造の破綻や細胞へのアーチファクトが強くかかつた組織が観察されるものがあつた。

【考察】

今回の検討より、EDTA で長時間処理を行った場合、従来の賦活条件では組織検体に強いアーチファクトがかかる可能性が示唆された。また EDTA 3 社間でも脱灰作用や組織・細胞への傷害に差が見られており加えて報告する。