

## 抗原賦活化処理を利用したチール・ネルゼン染色の検討

◎黒田 優太<sup>1)</sup>、五十嵐 久喜<sup>1)</sup>、斎藤 彩香<sup>1)</sup>、滝浪 雅之<sup>1)</sup>、井ノ口 知代<sup>1)</sup>、土屋 和輝<sup>1)</sup>、鈴木 晴菜<sup>1)</sup>、北山 康彦<sup>1)</sup>  
静岡済生会総合病院<sup>1)</sup>

【はじめに】チール・ネルゼン染色は、結核菌群や非結核性抗酸菌などの抗酸菌を病理組織学的に検出する染色法として一般的に用いられている。しかし、菌体量が極わずかな検体や、菌体が散在性に認められる場合では観察が極めて困難である。今回、前処理として免疫染色で多用されている抗原賦活化処理を行うことで菌体の検出率が向上し、良好な染色結果を得たので報告する。

【方法】結核菌陽性の生検および剖検例の FFPE ブロックから3枚の連続切片(厚さ3~4 $\mu$ m)を作製した。1枚目は酵素処理(400 $\mu$ g/ml proteinaseK)室温5分、2枚目は未処理、3枚目は Tris-EDTA 緩衝液(pH9.0)96°Cで30分の処理後、室温冷却30分とした。次に3枚を同時にチール・カルボールフクシン(武藤化学)にて染色し、対比染色にはレフレル・カリメチレンブルー液(200倍希釈)を用いた。ブラインドにて複数人による同視野での菌体数および染色性の比較検討を行った。なお、今回の検討は当院の倫理委員会の承認(No.3-18-02)を得て行った。

【結果】剖検材料は未処理と比較し、酵素処理および熱処

理で菌体の検出率が向上したが、生検材料では差異はみられなかった。また、生検、剖検材料共に菌体と背景のメチレンブルーとのコントラストに優れた染色結果となった。

【考察】結核菌はミコール酸を構成成分とする類脂質を含有している。ミコール酸はロウ様物質とも呼ばれており、剖検材料など固定時間の長いものほど石炭酸フクシンの染色性が低下する。剖検材料や手術材料など過固定となりやすい検体は、抗原賦活化処理を行うことで染色性の向上が見込めると考える。また、メチレンブルーによる対比染色は、抗原賦活化処理により核および結合組織の染色性が減弱する。これにより菌体と色素の被りが抑制され鑑別が容易になったと考える。日本の結核罹患率は2020年現在で10.1と高く、未だに中蔓延国である。そのため、チール・ネルゼン染色の重要性は大きく、染色結果は診断に直結するため高い精度が要求される。今回の検討結果より、前処理として抗原賦活化処理を行う方法は有用であると考ええる。

連絡先 ; 054-285-6171(内線 2644)