

EDTA 中性脱灰法の迅速化検討

◎中村 広基¹⁾
西尾市民病院¹⁾

【はじめに】迅速性から汎用されている酸性脱灰法は、遺伝子にダメージを与えるため、組織への障害が少ない中性脱灰法の迅速化が望まれている。そのため、EDTA 中性液での脱灰に係る時間をより短くすべく検討を行い、超音波照射する方法や高濃度 EDTA 液を用いた方法を模索してきた。今回、それらの迅速化方法を複合的に実施し、より迅速な脱灰が可能になること期待して実験を行った。また、複合的な脱灰環境で発生する組織へのダメージが許容される範囲にあるかを、遺伝子の断裂と免疫染色への影響について確認をしたのでまとめて報告する。

【方法】脱灰速度の検討では、実験対象は硬骨部分を 2x2x10 数 mm のサイズに切出し、グルーガン及びプラスチックストローを用いて被覆し、短辺の一端のみを露出させた。それを静置、攪拌、静置陰圧、超音波照射、超音波照射陰圧の各環境、2 種類の EDTA 濃度の試薬で脱灰を実施した。脱灰した組織を割入後に十分水洗したのち、割入面にコッサ反応を行ない、露出面からの距離を計測する方法で比較した。遺伝子への影響は、脱灰後に DNA を抽出

したのち、BioMed-2 primer set を用いた PCR を実施、各長さのバンドの発現を確認した。免疫染色は、抗 CK7 抗体、抗 Ki-67 抗体、抗 ER 抗体を実施して鏡検にて染色状態を確認した。

【結果】脱灰速度については、高濃度、通常濃度共に、超音波照射陰圧が最も早く、続いて超音波照射常圧、静置陰圧、攪拌常圧、上方静置常圧の順であった。また全ての方法にて、遺伝子の断裂および免疫染色への影響は確認できなかった。

【まとめ】今回の検討により、脱灰方法を複合的に行うことでさらなる加速が期待できることがわかり、また実験した条件での組織への影響は認められなかった。酸性脱灰液には及ばないものの、一定の迅速化ができたことから、安全に実施できる脱灰方法として常用化の可能性が高まった。高濃度液+超音波照射+陰圧までの複合条件の検討は行えたが、現状では3種+攪拌の条件で検討できる機器が見つからないため、この条件でさらに迅速化できるか検討を行いたい。
連絡先 0563-56-3171