

脱気操作における固定の影響【第2報】

◎土屋 和輝¹⁾、五十嵐 久喜¹⁾、斎藤 彩香¹⁾、滝浪 雅之¹⁾、井ノ口 知代¹⁾、黒田 優太¹⁾、鈴木 晴菜¹⁾、北山 康彦²⁾
静岡済生会総合病院 病理診断科¹⁾、同 病理部 部長²⁾

【背景・目的】第69回日本医学検査学会で脱気装置によるホルマリン固定液の浸透性の向上について報告した。その際は肉眼所見のみで主観的な検討であった為、今回は前回の検体を用いて客観的な結果を得る為に、免疫染色によるホルマリン固定領域及び未固定領域の染色性の違いを検証した。

【方法】肝臓の辺縁部と中央部それぞれについてブタと交叉反応を認める Ki-67 抗体と Cytokeratin7 で免疫染色を行った。染色条件はそれぞれの抗体で抗原賦活処理なし・処理ありの2系列とした。処理方法は Ki-67 では TE(1mmol/L EDTA 含有・10mmol/L トリス緩衝液 PH9.0)による 96°C・30 分間熱処理を行い、Cytokeratin7 では PK(Proteinase K 400 μ g/ml)10 分間の酵素処理を行った。

【結果】抗原賦活処理された検体は全体的に脱気・浸漬固定ともに Ki-67・Cytokeratin7 は陽性像を示した。抗原賦活処理なしでは、脱気固定検体は Ki-67・Cytokeratin7 とも陰性であった。逆に浸漬固定された検体では辺縁では陰性だったが中央では陽性部位が確認できた。

【考察】ホルマリンは蛋白質やポリペプチドのアミノ基と反応しメチレン架橋を形成する。その結果、抗原またはエピトープがマスキングされる。そこで、抗原の賦活化処理をすることで抗原抗体反応が進む。一方、アルコール固定の場合はアルコールの組織内への浸透は極めて早い、同時に脱水作用と脂質の溶解による細胞形質の強い収縮と硬化がおこる。しかし蛋白質の変性は少なく架橋もできないとされている。そのため免疫染色においては、ホルマリンに比べ固定時間に左右されず抗原賦活化処理がなくともある程度検出が可能になると考えられている。今回、ブタと交叉反応のある抗体を使用して免疫染色を行ったところ、浸漬固定されたものは抗原賦活化処理しないものでも陽性部位が確認できたことからアルコールによる二次固定だったのではないかと考えられた。今後としては牛の脳といった大きな臓器を使用し、ブタの臓器と同様の浸透性の向上が見込めるのか検証しつつ、結果の客観的解釈としてウシと交叉反応を示す抗体があれば免疫染色を駆使していきたい。
連絡先：054-285-6171(内線2644)