

腎検体における低真空走査型電子顕微鏡(LVSEM)を用いた TSC-PAM と MT 染色の観察

メセナミン銀および PTA の最適反応時間の検討

◎馬場 正樹¹⁾、中川 智貴¹⁾、村田 佳彦¹⁾、古屋 周一郎¹⁾、川西 邦夫²⁾
筑波大学附属病院¹⁾、筑波大学²⁾

【背景】腎生検検体において、疾患の鑑別や治療方針の決定には、光学顕微鏡での観察から、蛍光抗体法による免疫グロブリンの沈着の有無、そして電子顕微鏡での解析が必要不可欠である。しかし、電子顕微鏡での解析は、透過電子顕微鏡(TEM)の観察が主流であり、試料作成や画像解析に高度な知識が必要となる。そこで、操作が簡便で試料作成に特別な処理を必要としない、低真空走査電子顕微鏡(LVSEM)を使用した観察法が新たな方法論として検討されており、診断基準や診断法、および試料作成法の研究がすすめられている。

【目的】腎検体の LVSEM 観察において、FFPE 標本での TSC-PAM 染色が、糸球体基底膜構造の観察に優れていると報告されている。しかし、染色強度によってコントラストの低下が発生し、微細な基底膜構造の観察が困難となる可能性が考えられた。そこで我々は TSC-PAM 染色の工程のなかでも、メセナミン銀反応時間に着目し、反応時間によるコントラストの変化を検討した。またリンタンゲステン酸(PTA)による観察法も報告されてお

り、同時に MT 染色による観察も試みたので報告する。

【材料および方法】正常腎を使用し、切片厚は $5\mu\text{m}$ とした。TSC-PAM 染色では、メセナミン銀反応を 65°C 、10min.30min.60min の 3 条件で比較を行った。MT 染色では、PTA 反応を 10min.60min の 2 条件で比較を行った。

<結果>TSC-PAM 染色では、メセナミン銀反応 10min と 30min では観察困難であり、60min で基底膜構造の観察が可能となった。MT 染色においては、メサングウムの構造と尿細管の観察が可能であり、PTA60min の反応で、よりコントラストが上昇した。

【考察】TSC-PAM 染色では、メセナミン銀の反応時間により明瞭な差が生じる事が分かった。通常の TSC-PAM 染色の反応時間では観察困難であり、反応時間を更に延長することで良好なコントラストが得られると考えられた。また MT 染色も同様であり、PTA の反応時間を通常の工程より延長することが重要であると考えられた。