

## 免疫組織化学染色における抗原賦活化の加熱条件推定に関する検討

◎稲波久雄<sup>1)</sup>  
日立製作所<sup>1)</sup>

【はじめに】免疫組織化学染色における抗原賦活化の加熱は、標本の染色に大きな影響を及ぼす。加熱が不十分の場合、染色不良を引き起こす。一方で過加熱の場合、非特異染色が生じる可能性がある。適切な染色強度を得るために、加熱条件（加熱温度×時間）の設定が重要である。そこで、染色強度を染色前後の RGB 色差（RGB 色空間の 2 点間距離）で数値化し、さらに加熱温度の時間積分値（温度積分値）と染色強度との相関を作成することで、所望の染色強度が得られる加熱条件を推定する方法の有効性を評価した。

【方法】標本：2 種類のコントロールスライド ALK、PD-L1（フナコシ）を使用した。染色：ロシュ社 BenchMark ULTRA（以下、B.U.）を使用し、メーカー推奨プロトコールで実施した。抗原賦活化：100℃の加熱を B.U. で実施した。また 120℃以上の加熱条件については、B.U. から検体を取り出し、加熱装置による加熱を実施した後、検体を B.U. に戻した。染色画像の RGB 取得：染色した標本をデジタル顕微鏡カメラ（ケニス）で撮影し、染色画像の RGB 値取得には画像編集ソフト「Microsoft Paint」を使用した。染色強度

の取得：染色色素 DAB により茶褐色に染色された部位と、背景色との RGB 色差を染色強度として算出した。温度積分値の取得：標本の加熱履歴を時間積分し、閾値 95℃以上の面積を温度積分値として算出した。

【結果】異なる温度条件（100℃～140℃）で加熱し、染色した標本において、染色強度と温度積分値との間に相関がみられた。相関係数は、コントロールスライド ALK と PD-L1 いずれにおいても 0.96 であった。一例として、温度積分値が同等の 2 つの加熱条件（ALK 標準加熱条件（100℃×92 分）と高温条件（140℃×5 分））では、標本の染色強度が同等であった。異なる加熱条件においても温度積分値が同じであれば同等の染色強度が得られることを確認した。

【考察】免疫組織化学染色の対象となる抗原ごとに、染色強度と温度積分値との相関を予め作成し、所望の染色強度に対応する温度積分値を相関から読みとることで、温度積分値から加熱条件（加熱温度×時間の組合せ）の推定が可能になると考えられた。連絡先：070-4209-4548