

シンポジウム 2

下垂体ホルモンの免疫組織化学——方法論を中心として

瓦井康之 (群馬大学内分泌研究所)

1966年 Nakane により開発された酵素抗体法および Sternberger により非標識法が発表されて以来、内分泌臓器に、種々の方法で使用され、多くの新知見が得られて来ている。その方法としては、

1) 光顕レベル：固定—ホルマリン、Bouin液、Zamboni液、グルタルアルデヒド、パラフォルムアルデヒド、パラフォルムアルデヒド—グルタルアルデヒド混合液

包埋—①パラフィン、②エポンまたはグリコールメタクリレート

2) 電顕レベル：①凍結切片法、②超薄切片法

などがあり、光顕レベルではほとんど問題なく良好な結果が得られるが、電顕レベルの凍結切片法においては、超微細構造の保持が悪く、超薄切片法においては、抗原の局在を観察するには良好であるが、その抗原を有する細胞が、従来電顕で観察されて来たどの細胞に相当するか、特に小型の分泌顆粒を有する細胞については、明確さを欠いている。そこで、免疫組織化学を使用した隣切々片対応法を行い非常に良好な結果を得た。

3) 隣切々片対応法

① グルタルアルデヒド—オスミウム酸の二重固定、② エポン—アララナイト包埋、③ 超薄切片作製—4枚の連続切片を2枚ずつ2枚のメッシュに載り、ウラン—鉛の二重染色、④ 1 μ mの光顕用厚切々片作製—数枚連続切片とし、一枚ずつスライドガラスに載り、脱エポン、脱オスミウム後、数種の抗体にて連続切片を染色、⑤ 反応陽性になった細胞を超薄切片上に探し、その超微細構造を電顕で観察する。

この方法によれば、抗原の細胞内局在、各抗体反応陽性細胞とおしとの関係、分布状態、超微細構造、従来観察されて来た細胞との関係などを明確に出来る。欠点は反応陽性細胞を超薄切片上で見つけるのにかなりの時間を要する点である。なおほぼ似た方法で、グルタルアルデヒドの代わりにアクロレインを使用する方法、および、1 μ mの光顕用連続切片上の同一細胞を検討するのに Mirror section を作製する方法（以上いずれも長村ら）、などがあり、有用なものである。さらに固定法を変える事により、（例えばパラフォルムアルデヒドとグルタルアルデヒド混合液、その他）、抗体反応陽性細胞と、一般の組織学的染色法との関係なども明確に出来る。

酵素抗体法を用いて行われたラット前葉細胞の同定と、従来電顕によって行われて来た細胞同定に、一部異なる結果が得られた。特に ACTH細胞と TSH細胞については、その同定に問題があったが、隣接切片対応法により、明確に出来た。また LH細胞の同定、さらにこれら3種の細胞が、各種実験下で示す形態的变化についても言及する。