

## I B-O1

パラフィン切片に於けるKi-67抗原賦活処理の検討 — 顕微蛍光測光法を用いて —

堀井淳史、浦田洋二\*、安住有二、小西英一\*、久保速三、山岸久一、岡 隆宏、芦原 司\*

京都府立医科大学第2外科、第1病理\*

【目的】 MIB-1抗体(Immunotech社)は、パラフィン切片においてKi-67抗原を認識できるため、ヒト腫瘍の増殖解析に広い応用性が期待される。今回パラフィン切片のMIB-1免疫染色に対する固定時間と抗原賦活処理の影響を、Ki-67/DNA二重測光法を用いて定量的に解析した。【方法】 ヒト白血病細胞株K562を1日から10日間10%緩衝ホルマリン固定し、パラフィン包埋した。この単離塗沫標本を脱イソ水、1mMクエン酸溶液、1%硫酸亜鉛溶液に各々浸し、オートクレーブ処理(120°C、5分又は10分)或いはマイクロウェーブ処理(700W、5分3回又は5回)を行い抗原を賦活した。MIB-1蛍光抗体法(Texas Red)とDNA染色(DAPI)を行い多重顕微蛍光測光を行った。ほぼ全ての細胞がKi-67陽性である新鮮細胞塗沫標本を対照とした。【結果】 1) オートクレーブ処理検体はマイクロウェーブ処理検体に比して、陽性率が高く再現性にも優れていた。2) 10mMクエン酸溶液以外の緩衝液では十分な染色性が得られなかった。3) 固定時間が長いとKi-67陽性細胞率、蛍光量共に減少した。4) 賦活処理時間が長いと、Ki-67陽性細胞率は高くなるが蛍光量は減少する傾向を認めた。DNA蛍光量も減少した。5) 抗原賦活されなかった細胞は主としてG1期にあった。

## I B-O2

ホルマリン固定・パラフィン包埋組織を用いたp53免疫染色におけるマイクロウェーブ処理による抗原賦活法の有用性について

安積和之、湯川雅彦、藤盛孝博

(神戸大・医・第2病理)

【目的】 p53遺伝子は、第17番染色体短腕に存在し多くの腫瘍でその異常が見られ、その免疫染色は、p53遺伝子異常の検出法の一つとして用いられている。多くの施設でホルマリン固定・パラフィン包埋組織を対象に行なっているが、ホルマリン固定は条件により抗原性の低下を起こすことがある。そこで私共はホルマリン固定時間がp53の免疫染色に与える影響について検討を加えた。あわせて、マイクロウェーブ処理による抗原賦活法についても検討した。【方法】 ホルマリン固定時間の異なった大腸腫瘍組織32例を用い、薄切した切片を100°Cの溶液中に入れマイクロウェーブ処理を行い従来の免疫染色と比較検討した。一次抗体はCM1を使用した。【結果】 マイクロウェーブ照射5x2分、一次抗体2000倍希釈で良好な染色性がみられた。ホルマリン固定時間が48時間以内では染色結果に差はみられなかったが、48時間以上では10%の偽陰性例がみられた。【結論】 ホルマリン固定・パラフィン包埋組織を用いたp53免疫染色においてマイクロウェーブ処理は簡単で有用な方法であるが、初期の固定時間が48時間以内であればp53免疫染色は通常の方法で判定可能であった。