

P-29

ラジオオートグラフィーによるマウス腎臓の
 ^3H -glucosamine取り込みの加齢変化

城倉浩平 永田哲士
Johkura Kohei, Nagata Tetsuji

信州大・医・第一解剖
Department of Anatomy and Cell Biology
Shinshu University School of Medicine

マウス腎臓の ^3H -glucosamine取り込みの
加齢変化をradioautographyにより観察した。

【材料と方法】 ddY系マウスの胎生19日、
生後1、3、8、14日、2、6、12カ月の
各群同腹3匹に、 ^3H -glucosamineを腹腔
内注射し、1時間後に摘出した腎臓組織を緩
衝2.5%グルタルアルデヒド液と1%四酸
化オスミウム液で重固定、エボン包埋、薄切、
コニカNR-M2乳剤を適用し、露出、現像後、
トルイジン青染色した標本を画像解析装置
LUZEX IIIで観察し、銀粒子計数を行った。
また同系マウス、生後1、7、14、31日
の腎臓組織を ^3H -glucosamine含有Eagle培
養液中で2時間培養し、同様に固定、包埋、
薄切後、光顕ラジオオートグラフィーを行う
と共に、コニカNR-H2乳剤適用による電顕
ラジオオートグラフィーを行った。

【結果】 銀粒子は腎臓皮質の腎小体及び尿
細管に認められた。両者を比較すると、後者に
より多くの銀粒子を認めた。近位及び遠位尿
細管上皮の銀粒子数を計数した結果、出生前
後で最多であり、生後加齢に伴い減少した。

【結論】 マウス腎臓ネフロン各部の、加齢
に伴う ^3H -glucosamineの取り込みの変化が
明らかになった。

P-30

Improvement of fixation for in situ
hybridization

Ohtani H, Nagura H.

Department of Pathology, Tohoku
University School of Medicine

In situ ハイブリダイゼーション用の固定として
は、4%パラホルムアルデヒド(PFA)が推奨され
てきた。しかし、固定効果は必ずしも安定
していなかった。これに対して、グルタルアル
デヒド(GA)を固定に用いる方法が提唱さ
れた。我々はこの固定法がヒトがん組織にお
いてもメッセンジャーRNAの保存に優れているこ
とを見いだした。【材料と方法】 ヒト胃・大
腸癌35例である。手術摘出後直ちに5x5x
2mmに細切し、4%PFA+0.5% GA/0.75Mリン
酸緩衝液、pH7.2/1mM MgCl_2 +1mM CaCl_2 液
に浸漬し、4度、一晚固定し、通常通りパ
ラフィン包埋した。コントロールとしては4%PFA固
定(2-6時間)凍結切片である。ヒトI型コラ
ゲンに対するdigoxigenin標識RNAプローブ
を用いた。【結果と考察】 全例間質の線維
芽細胞に陽性シグナルを認めた。これはがん
間質の線維化部分と一致していた。すなわ
ち、陽性所見が予想される場所にのみシグナ
ルが安定して検出された。これは4%PFA固
定凍結切片での約半数でのみ、切片の表面
でシグナルが検出されたという結果と比べる
と明白に向上していた。組織化学では固定
は弱い程良いという概念はここでは成立し
ないこと、また、組織化学法の向上には固
定方法の改良が大切であることを確認し
た。