

クリオスタット凍結標本による病理組織迅速診断法の検討

姫路家畜保健衛生所

○矢島和枝 小島温子 名部美琴 中条正樹
丸尾喜之 小倉裕司

【はじめに】病理組織検査の常法であるパラフィン標本は、作製に数日を要するが、凍結標本は解剖当日に作製・鏡検できることから、検査の迅速化が期待できる。しかし、組織像が不鮮明になりやすいため家畜病性鑑定での活用は少なく、豚コレラ等の蛍光抗体法(FA)の利用に止まっている。そこで今回、凍結標本のHE組織像の改善と、各染色法の染色性を確認し、組織迅速診断法としての実用性を検証した。

【材料・方法】材料：H25年9～12月に、病理解剖を行った牛および鶏の臓器を用いた。

方法(1) HE染色で、豚コレラFAのプロトコールを基に、組織像への影響が大きいと考えられる凍結、固定、核染色後の色出について、以下の条件を比較・検討した。

①凍結：-80℃ヘキサン、液体窒素、ドライアイスヘキサン(DH)、-80℃冷凍庫内、-20℃クリオスタット内

②固定：アセトン、メタノール、エタノール、ホルマリンメタノール(FM)、アセトンエタノール(AE)、パラホルムアルデヒド(PFA)、Perfix

③核染後の色出：温水、0.1%アンモニア水、0.1%炭酸リチウム、0.5%炭酸ナトリウム

(2)特殊染色(特染)：グラム、PAS、PTAH、ズダンBの染色性を確認した。

(3)免疫組織化学染色(免染)：リンパ球マーカー(CD3、CD79a)を用い、抗原賦活化なしで、固定条件(メタノール、FM、アセトン、AE、PFA)による染色性を比較した。

(4)病性鑑定3症例(鶏1症例、牛2症例)について、凍結標本による迅速診断を試みた。

【結果】(1)HE染色で、組織構造の保持は凍結温度、細胞構造の明瞭さは固定条件で異なり、薄切が容易かつ組織像が良好だったのはDH凍結、FM固定で、色出の差はなかった。

(2)特染は、グラム、PAS、PTAHはDH凍結・FM固定、ズダンBはPFA固定で最も良染した。

(3)免染はアセトン、PFA、FM、AE、メタノール固定の順に陽性反応が強かったが、アセトン、PFAは組織変性が強く、陽性反応と組織像がともに良好だったのはFM固定だった。

(4)病性鑑定事例は、解剖後数時間で鏡検でき、病原検索と併せ、迅速な回答が可能だった。

鶏症例：HE、グラム、大腸菌免染実施。鶏大腸菌症と診断。

牛症例1：HE、免染(CD3、CD79a)実施。牛白血病と診断。

牛症例2：HE、グラム、免染(*Mannheimia haemolytica*)実施。牛マンヘミア症と診断。

【まとめ】(1)凍結標本を用いたHE染色・特染は、適切な凍結・固定条件下では、良好な組織像が得られた。(2)免染は陽性反応を認めたが、抗体や固定法で染色性の差が大きく、さらに検証が必要と思われた。(3)凍結標本の活用により迅速に組織像を把握できることから、病性鑑定における病原検索や血液検査と併せた総合診断の迅速化が可能となった。