

安定的な DFS 染色の確立を目指して

渡邊 拓也¹⁾、西川 武¹⁾、龍見 重信¹⁾、鈴木 久恵¹⁾、竹内 真央¹⁾、田中 京子¹⁾、
福井 義雅¹⁾、梅木 弥生¹⁾
奈良県立医科大学附属病院¹⁾

はじめに：アミロイド染色は、アミロイドーシスにおける組織内アミロイドを証明する染色法として重要な染色であり、一般的にはコンゴレッド染色が用いられている。しかし、コンゴレッド染色では、時に皮膚アミロイド沈着の判定に難渋することが知られている。最近、アミロイド染色であるダイレクトファーストスカーレット（以後 DFS）染色では、皮膚アミロイド沈着の判定が容易であることが示され、多くの施設が本染色法を採用している。我々の施設においても、日常的に DFS 染色を行っている。しかし最近、時にアミロイドの染色不良が発生することがあり、染色毎ごとの染色性が一定でないことなど、その染色性が安定しない。アミロイドを安定して染色し、より良い染色結果を得るために、染色法の改良は必要不可欠と考える。今回我々は、DFS 染色に用いる試薬の調整方法について検討を行ったところ、若干の知見が得られたので報告する。

方法：標本は 5 μ m 厚アミロイド腎解剖標本を使用した。使用試薬は、DFS 4BS（武藤化学）を用いた。DFS 染色液の調整は当院で使用している調整法に基づいて調整した。蒸留水 100ml を 60 度に加熱し DFS 4BS 1g を溶解後、塩化ナトリウム 8g を添加し 10 分間攪拌、溶解した。これを原液として室温でろ過を行って 40ml のろ液を作製し、純アルコール 10ml を加えて使用液とする方法を基準とした。染色プロトコールは脱パラ、水洗後 DFS 液 60 分、水洗、マイヤーヘマトキシリン 10 分、色だし水洗を行い、脱水、透徹、封入を行うプロトコールを基準とした。本検討では、当院で使用しているプロトコールおよび調整法を対照として、DFS 液の調整法につき検討を行った。検討内容は DFS 4BS 試薬の使用量を 0.1g ~ 2.0g の間で変更した 5 系列、塩化ナトリウムの添加量を 0.8g ~ 16g の間で変更した 5 系列、ならびに試薬調整時の加熱の有無、染色時の加熱の有無、アルコールによる溶解、ろ過の有無を変更した染色法を加え、合計 11 系列を染色し、当院法と比較して染色性を評価した。染色が可能であった方法に対しては、異なった Lot の DFS 4BS を用いて再染色し、染色の安定性についても評価した。

結果： DFS 液作製法による、アルコールによる DFS 4BS 試薬を溶解した結果、その染色液の性状には混濁がな

く、色調は濃赤色を示した。DFS 染色性においては、標本全体が赤色を示し、偏光顕微鏡により偏光は確認されなかった。DFS の濃度を 0.1g から 2.0g まで、塩化ナトリウムの濃度は 0.8g から 8.0g の間では、調整時 DFS 溶解加熱および染色時加熱の有無にかかわらず、その染色液の性状は混濁がなく、色調は赤色から暗赤色を示した。DFS 染色性においては、染色性に強弱は見られるものの、アミロイド沈着部は赤色を示し、偏光顕微鏡により緑色蛍光色を示した。しかし DFS 4BS 試薬の Lot を変更し、同様に DFS 4BS の濃度は 0.1g から 2.0g まで、塩化ナトリウムの濃度は 0.8g から 8.0g の間で、調整時 DFS 溶解加熱および染色時加熱の有無を行った結果、その染色液の性状には混濁がなく、色調は薄赤色から赤色を示した。DFS 染色性においては、アミロイド沈着部は染色されないか極薄く染色されたが、偏光顕微鏡により偏光は確認されなかった。しかし、Lot に関わらず、ろ過を行わずに染色液の調整を行った結果、その染色液の性状は混濁が見られ、色調は暗赤色を示した。DFS 染色性においては、アミロイド沈着部位は赤色に安定的に染色され、偏光顕微鏡により緑色蛍光色を示した。

考察：今回の我々の結果では、DFS 4BS の濃度、塩化ナトリウムの量、加熱の有無などの条件の検討を行った結果、一定の範囲内では、染色性の安定性には大きく関与しないことが明らかとなった。また、Lot 間差によりその染色性が大きく左右されることも明らかとなった。Lot を問わずに安定的な染色性を得られる要因として、唯一染色液作成過程における、ろ過の工程を省略することではないかと考えられた。今回の検討結果をもとに、今後さらなる試薬調整法の条件について検討を行っていきたい。

奈良医大病理部 0744-22-3051 内線 4303