

カラッチのヘマトキシリンの共染防止

—HE 染色標準化の観点—

早田 正和、巖谷 織絵

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 腫瘍学講座 分子細胞病理学

はじめに

ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色は病理組織の最も基本的で重要な一般染色法である。また、光学顕微鏡での形態観察に最も適した染色法であることから、HE染色の標準化は必須である。しかし、染色試薬の違いに加え方法も多様化しているため標準化しにくいといわれている。ヘマトキシリンは南米産の樹木から抽出される無色ないし淡褐色の結晶で、水に溶けにくくアルコールに溶けやすい。ヘマトキシリン自体は僅かに負に荷電した色素で染色性を持たない。空気中での酸化、あるいは各種の酸化剤（ヨウ素酸ナトリウム、過酸化水素、過マンガン酸カリウム等）により容易に酸化されてヘマテインという物質になり、金属（アルミニウム、鉄、水銀等）との結合によって陽性に荷電して染色性を生じる。したがって、ヘマトキシリン液の作製にはその酸化と金属の結合等について非常に多くの方法が考案されており、使用目的によって選択される。ヘマトキシリン液には酸を多く含む酸ヘマトキシリンで核を選択的に染め上げる進行性染色（マイヤー、リリー・マイヤー等）と、核以外に細胞質や結合組織等も染め上げた後に酸性の水溶液等で核だけを選択的に染め上げる退行性染色（カラッチ、ハリス、ギル等）がある。退行性染色は、進行性染色に比べ分別する過程が必要だが、クロマチン等を繊細に染め出すことが出来る。しかし空気酸化によって染色液表面にキラキラした膜が浮き、染色の妨げになる。また、過剰酸化した液は、染色性の低下や共染が著明に現れる。そこで、今回核を繊細に染め出すことが出来る退行性染色のカラッチのヘマトキシリンを用いたHE染色の標準化のために、進行性染色のマイヤーのみに用いられているpH調整剤のクエン酸を加えることで過剰な共染を抑え、HE染色の標準化に寄与するか検討を行った。

方法

3.5 μ mの厚さで薄切した乳腺組織を用いて、新しく作製したカラッチのヘマトキシリンをコントロールに、作製後6ヶ月経過（使用1ヶ月）したヘマトキシリン（古ヘマト）にクエン酸を0、0.01、0.1、1、5、10%の割合で加えた染色液で5分間染色後、水洗、脱水・透徹後封入し、顕微鏡により評価を行った。

結果

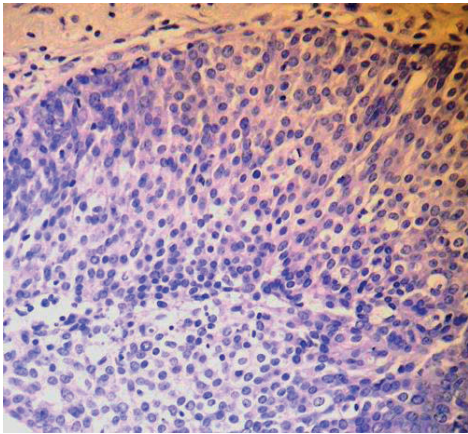
1. コントロールのpHは2.74に比し、古ヘマトのpHは2.70と小差だった。しかし、組織染色では古ヘマトに明らかな過剰共染が見られた。
2. 古ヘマトのpH2.70に比し、クエン酸0.01、0.1%含む古ヘマトではpH2.62、2.35と、マイヤーのpH2.51に近接した。更に、組織染色でも共染が減り核のみ選択的に染色された。
3. クエン酸1、5、10%含む古ヘマトのpHは1.92、1.68、1.58と、古ヘマトに比し更に酸性に傾き染色性がほぼ無くなった。

考察

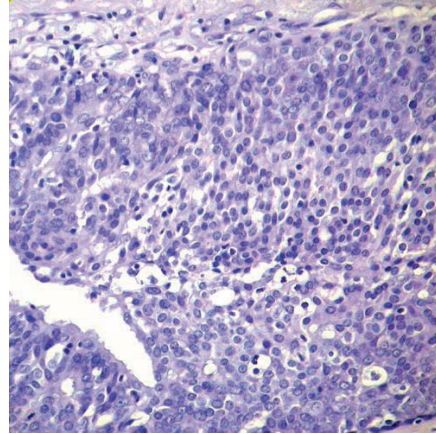
退行性染色のカラッチのヘマトキシリンには防腐剤・酸化防止剤の目的でグリセリンが用いられてい

る。しかし、毎日の染色過程で空気酸化がおこり液表面にギラギラした膜が浮き出し、染色の妨げになる。浮き出した膜は、キムワイプ等で取り除くことは可能だが、次第に起こる過剰共染は避けられない。過剰共染により分別は難しく技師の経験が必要であり、標準的な染色性を常に念頭におく必要がある。薄切の条件、染色時の温度、湿度、病理医の好みなど、標準化にはいくつもの条件が必要になるが、他施設のHE染色と比較し、自施設の染色性を客観的に見る必要がある。今回、古ヘマトに使用経過時現れる共染を防止することを目的に、進行性染色のマイヤーにのみ使用されているクエン酸を用いて検討を行った。クエン酸を0.01、0.1%加えることで、コントロールと同じ染色性が得られたことから、分別なしに同じ染色条件で染色することができた。このことから、HE染色の標準化に寄与するものと考えている。今後、長期使用による染色性（核の繊細な部分や共染）の変化を確認していきたい。

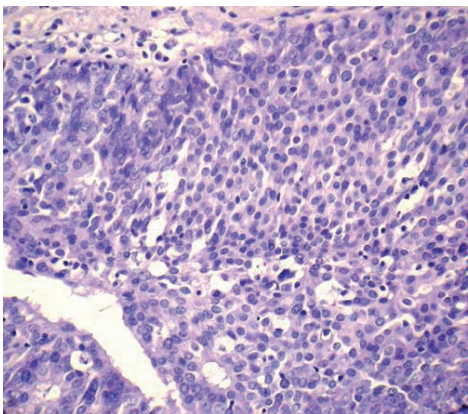
コントロールと比較したクエン酸添加による古ヘマトキシリン染色性の影響



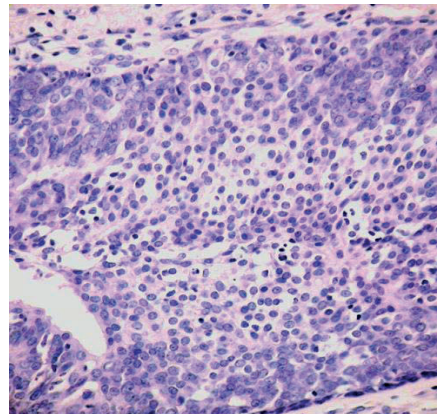
コントロール



古ヘマトキシリン



クエン酸 0.01%古ヘマトキシリン



クエン酸 0.1%古ヘマトキシリン