第 14 回日本臨床検査学教育学会学術大会　臨床検査学教育 Vol.12, No.1 p.76 ～ 77, 2020.

学生優秀発表賞受賞者：大石奈美　演題番号　学 06

熱処理を利用した新しい PTAH 染色の確立

大石奈美[*1]　塩竃和也[*2§]　道場彩乃[*3]　平山将也[*3]
金子千之[*2]　柳田隆正[*2]　安倍雅人[*2]

I. 研究の概要

【はじめに】

PTAH 染色は、横紋、フィブリンおよび神経膠線維を証明するための染色法である。それらの対象は青色に、膠原線維などは赤色に染め分けられる。1897 年に Mallory 氏によって考案されて以来、染色向上のためのさまざまな改良法が考案されてきた。そのため、染色工程（媒染・酸化・還元）、使用する試薬および染色時間が異なる改良法が多数存在し、参考書レベルでも統一されていない。また、環境や人体への悪影響が懸念される六価クロムによる媒染処理など、時代にそぐわない方法もいまだ推奨されている。本研究は、免疫染色で用いる加熱による抗原賦活化処理（熱処理）に着目して、新しい PTAH 染色の確立に成功したため報告する。

【材　料】

本学大学病院に保管されているホルマリン固定された剖検材料からパラフィン切片を作製した。横紋の証明には心臓、フィブリンの証明には DIC を発症した腎臓と虫垂炎、神経膠線維の証明には大脳を用いた（医学研究倫理審査承認 CI19-188）。

【方　法】

PTAH 染色の媒染・酸化・還元の工程を熱処理に代用できるか検討した。熱処理に使用する内部溶液には、蒸留水、10 mM クエン酸緩衝液 pH6.0 および 1 mM EDTA 溶液 pH8.0 を用いた。さらに、各種熱処理方法（圧力鍋、オートクレーブ、電子レンジ、恒温槽、電気ポット）や各種対象組織における染色時間の検討を行った。

【結　果】

蒸留水を用いた熱処理に限って良好な染色像が得られた。さらに、染色液を加温（60℃ 60 分加温後、室温 30 分冷却）することによって横紋やフィブリンの青色と膠原線維の赤色のコントラストが増強された。恒温槽を除くすべての熱処理方法で良好な染色結果が確認できた。横紋、フィブリンおよび神経膠線維のいずれも同一の染色時間で明瞭に検出することができた。

【まとめ】

本改良法は、従来法と遜色ない良好な染色像を得ることができ、染色時間の短縮にも成功した。従来法で行う媒染・酸化・還元の工程を蒸留水による熱処理に代用し、染色液を加温するだけで良好な染色性を示した。熱処理を用いることで手順が簡略化され、染色液を加温することで膠原線維の赤味が強いコントラストに優れた染色像が得られた。横紋、フィブリンおよび神経膠線維の対象によって染色時間を変える必要がなく、同一の

[*1] 藤田医科大学 医療科学部 臨床検査学科
[*2] 藤田医科大学 医療科学部 臨床検査学科 形態・細胞機能解析学　[§] kazshio@fujita-hi.ac.jp
[*3] 藤田医科大学 大学院保健学研究科

染色時間で検出できる利点もあわせもつ。六価クロムを排除することで、近年重要視されている環境問題や人体被害の問題を一掃できる理想的な染色法へ近づけることに成功した。本改良法は、非常に簡便かつ安全な方法であり、病理検査室ですぐに実践できる方法として位置づけられる。本改良法が臨床において広く利用されることを期待したい。

II．受賞の感想

この度、第14回日本臨床検査学教育学会学術大会において、優秀発表賞を受賞し、大変光栄に思います。この研究は、大学3年次から講義や実習の空き時間や休暇中などに少しずつ進めてきたものです。今回の受賞は、日頃から熱心に指導してくださる塩竃先生をはじめ、研究室の大学院生や諸先生方のおかげであり、心から感謝申し上げます。いつも温かく見守ってくれる両親にも深く感謝申し上げます。

今回が初めての学会発表であり、非常に緊張しましたが、発表後に多くの方からお褒めの言葉をいただき大変嬉しく、また励みになり、今後の糧としたいと思います。

III．将来への抱負

この研究活動を通して最も感じたことは、人との繋がりの大切さです。研究を進めていく中で我々とは違った視点から研究を行う方々に出会い、刺激を受けることによって、研究がより良いものになりました。また、発表後に声を掛けてくださった方から、今後の研究のヒントを得ることが出来ました。

私は来年度から病院で臨床検査技師として働く予定です。人との繋がりを大切にし、リサーチマインドを持つ臨床検査技師として活躍出来るよう努力していきたいと思います。

Ⅳ．その他

PTAH染色は、1つの染色液に反応させるだけで青色と赤色に染め分けられる不思議な染色です。例えば、HE染色ではヘマトキシリンで核を青紫色に、エオジンで細胞質を淡紅色に染め分けます。しかし、PTAH染色は1つの染色液のみで対象を青色に、膠原線維などを赤色に染め分けることが出来ます。また、組成はヘマトキシリンと殆ど同じです。違いは媒染剤であり、ヘマトキシリン液ではアルミなど陽性荷電の金属を、PTAH染色ではリンタングステン酸を用います。HE染色は、ヘマトキシリンとエオジンの荷電の違いにより染め分けられると言われています。しかし、PTAH染色の染色原理は未だ解明されていません。染色原理が明らかなヘマトキシリンに類似した組成でありながら、PTAH染色では染色工程も染色結果も異なります。このように、単純なようで「謎」が多い奥深さがPTAH染色の魅力と考えています。

PTAH染色は、臨床で用いられることが少ない染色であり、HE染色やAzan染色のように知名度が高い染色でもありません。そのため、研究内容が皆さんにどのように捉えられるかが不安でしたが、今回の受賞でPTAH染色に少しでも興味を持っていただけたら幸いです。