

免疫組織化学とは ～病理診断における酵素抗体法～

芹澤昭彦¹⁾、長村義之²⁾

1) 東海大学医学部付属病院 病理検査技術科

2) 東海大学医学部 基盤診療学系病理診断学

【はじめに】

免疫組織化学は、抗原抗体反応により組織・細胞内の抗原（蛋白）を検出する方法である。その歴史は 1955 年に Coons らが蛍光色素を標識した抗体を用いて形質細胞内の免疫グロブリン（IgG）の局在を初めて観察し、1959 年に Singers によりフェリチン抗体法が報告された。1966 年、Nakane と Pierce によって、酵素を抗体に標識し光顕および電顕でも観察ができる「酵素抗体法」が開発された。その後、40 年余りで酵素抗体法は劇的に発展し、現在では、医・生物学の分野で幅広く応用されており、われわれの病理診断の分野においても、欠かす事ができない方法になっている。

【病理診断における酵素抗体法の発展】

近年の病理診断において、悪性リンパ腫の診断や乳癌における治療適応の判定などに用いられ、組織切片に限らず細胞診検体にも幅広く応用されており、症例によっては酵素抗体法が不可欠な場面もある。その病理診断に応用される抗体だけでも、数多くの種類が販売や提供されており、すべての抗体を把握するのは極めて困難である。実際、同種類の抗体がいろいろなメーカーから販売されており、選択に迷う事なども多々ある。抗体の選択の際に、以前では、メーカーやロット差が認められ染色結果が異なる事もしばしば経験し、抗体の選択には気を遣っていた。しかし、それらの多くの抗体は、以前に比べ安定した結果が得られるようになってきており、抗体の保存（希釈済み抗体など）や事前の染色条件の検討といった取り扱いも簡便になってきており、多くの施設で通常業務として染色が行なわれるようになってきた。近年の病理診断において、酵素抗体法が多くの施設で活用されるようになり、発展した大きな要因は以下に記すような事が考えられる。

1. 安定した抗体の供給

以前は、ポリクローナル抗体の使用が多かったが、近年では、より特異性の高いモノクローナル抗体が多く使用されるようになってきた。また、抗体の精製技術の向上により、良質な抗体が得られるようになった。さらに、同じ抗体でも反応性が高いクローンの開発、最近ではラビットモノクローナル抗体も開発され、実際に使用されている。

2. 検出試薬の高感度化

検出法も時代とともに、種々の開発や検討が行なわれ、①の直接や間接法に始まり、現在では、⑥の CSA 法といった方法では、目的の物質（抗原）が微量でも検出を可能としている。

- ①直接・間接法
- ②PAP 法
- ③ABC 法
- ④ (L) SAB 法
- ⑤高分子ポリマー法（シンプルステイン MAX、Envision など）
- ⑥CSA または TSA 法

高感度化検出法である高分子ポリマー法は、検出感度が良いのみだけではなく、その染色方法も簡便（他の方法に比べステップ数が少ない）で、現在、最も多くの施設で用いられている。

3. 加熱による抗原賦活化

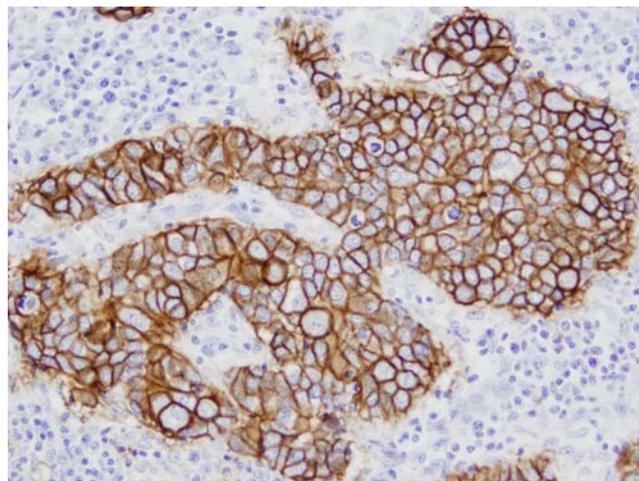
蛋白分解酵素による抗原の賦活化はかなり以前より行なわれていたが、十数年前に発見された加熱による抗原の賦活化は、パラフィン切片において使用可能な抗体（種類および数）を加速度的に増加させた。現在でも、賦活の原理は完全には明らかにされていないが、その方法は多くの検討がなされ様々な賦活法が行なわれており、今の酵素抗体法には必須な方法である。現在、加熱による抗原賦活化として行なわれている代表的な方法を以下の表に示す。

加熱における代表的な賦活機器と賦活液	
賦活機器	賦活液
オートクレーブ(AC)	0.01M クエン酸緩衝液 (pH6.0・pH7.0)
マイクロウェーブ(MW)	1mM or 0.01M EDTA 溶液 (pH8.0)
圧力鍋(PC)	5%尿素
ウォーターバス(WB)	0.1M トリス塩酸緩衝液
電気ポット	各社市販の抗原賦活液

このように、賦活機器、賦活液は数々あり、その組み合わせは賦活時間等も合わせると無数になる。加熱による賦活法は酵素抗体法の幅を広げた反面、その染色条件の施設間差を少なくする事や染色条件の単純化といった標準化などを今後の課題とした。

【最後に】

病理診断において、欠かす事ができなくなった酵素抗体法は、今後、診断および患者治療のための適応判定や評価などのニーズが多様化し、さらに、需要が増えるものと思われる。それらに対応するには、染色結果の再現性や迅速性などが大変重要となってくる。近年では、自動免疫染色装置も開発され、実際、用手法に近い染色結果が得られるようになり、再現性の向上や効率のよい染色を可能としている。また、前述したように、現在では多くの抗体が使用され、染色条件等も施設間によって異なり、染色結果のばらつきが見られる事がある。複雑化した賦活方法や新しい抗体に関する情報などは、今回、立ち上がったこのような WEB サイトなどを有効利用し、染色の向上や精度管理に役立てて、さらに病理診断に有用かつ患者に有益となることを切望する。



ヒストファインHER2 キット (MONO) における
ニチレイバイオサイエンスの自動免疫染色装置：ヒストステイナー48A の染色結果。

細胞膜に一致して陽性像が確認され、良好な染色結果が得られている。