

CD26/DPPIV活性染色法の細胞形態学的診断における有用性とそのキット化へ向けての検討

柏田 奈菜¹⁾ 荒武 八起¹⁾ 清山 和昭¹⁾ 白濱 幸生¹⁾ 南嶋 洋一¹⁾ 栗林 忠信²⁾

社会医療法人同心会 古賀総合病院 臨床検査技術部¹⁾ 同内科²⁾

<はじめに> CD26/DPPIV は中皮腫・大腸がん・腎癌・一部のリンパ腫などで高発現し、黒色腫などでは発現が低下することが知られている。我々は、CD26/DPPIV が甲状腺癌・肺がんにおいて有意に発現していることを見出し、その診断学的有用性について報告してきた。CD26/DPPIV 発現の評価法としては、mRNA の定量・免疫組織学的方法などあるが、CD26/DPPIV の酵素活性を標的にした活性染色法が最も簡便である。今回、ルーチン検査法への導入を目的にキット化へ向けて検討したので報告する。

<材料>固定法および基質液やアゾ色素液の保存条件等について検討するために、CD26/DPPIV 陽性甲状腺細胞株および甲状腺乳頭癌組織の凍結切片を用いた。

<方法と結果> ①基質液とアゾ色素液の保存温度の検討: 基質を 100%N-N ジメチルホルムアミドに、アゾ色素を 70% N-N ジメチルホルムアミドに溶解し、それぞれ-30℃、4℃、室温で一週間保存後、甲状腺未分化細胞株(H30)を用いて CD26/DPPIV活性染色態度を検討した。その結果、基質は温度の変化に対して安定であるが、アゾ色素は極め

て不安定であった。②アゾ色素の保存条件の検討: アゾ色素を 70%水溶液のエタノール、メタノール、アセトン、N-N ジメチルホルムアミドに溶解した。各々を 4℃、室温で保存し乳頭癌組織の凍結切片を用いて、CD26/DPPIV活性染色態度を経時的に検討した。その結果、70%エタノール溶解アゾ色素液では CD26/DPPIV活性が消失するのが速く、他の溶液は長期保存に耐えることが判明した。中でもメタノール溶解アゾ色素液は 3ヶ月を超えても安定した染色結果が得られた。③ 基質とアゾ色素の混合比の検討: Lojda の原法の混合比を変えて検討した結果、基質・アゾ色素とも半量でも染色性に大きな差はみられなかったが、アゾ色素の量を増やすと背景の色調が強くなった。④ キット化に向けた簡易法の検討: 基質・アゾ色素・緩衝液を点眼式の容器で冷蔵保存し、使用に際し精製水に規定量滴下して反応液とする方法を確立した。

<まとめ> キットの試作品を作製し、より簡便で低コストに染色できるようにした。