

# Zelkova NEWS

No. 1  
April 2022

## セルコバニュース発刊のお知らせ

このたび、長らく休止しておりましたセルコバニュースを再開することになりました。今後は各部局の紹介や、病理検査や細菌検査、臨床検査、遺伝子検査にまつわるトピックについて、少しずつではありますが発信できればと考えております。

1997年にセルコバとして設立後、2011年にサンリツセルコバ検査センターとなってから10年以上が経ちました。昨年、日本動物高度医療センター内の拠点を整備し、新たに「セルコバパソロジーセンター川崎」を開設しました。本拠点では、病理医－臨床医双方で活発な議論ができる環境を整備することで、病理医の診断技術、ならびに臨床の先生方から投げかけられる問題を解決できる能力のさらなる向上をはかっています。

また、病理検査部門に加え、細菌検査部門、臨床検査部門、遺伝子検査部門など、幅広い検査業務を受託しています。動物が健康で安心できる生活を送れるように、動物の総合検査センターとして臨床の先生をサポートしてまいります。

私たちは、動物にとって最善の治療のために、臨床につながる結果を正確・迅速にご報告できるように心掛けています。家族の一員としての動物が少しでも長く幸せに生活できる様に、さらなる診断技術の向上に努めてまいりますので、今後ともご利用賜りますようお願い申し上げます。



サンリツセルコバ検査センター 代表取締役 下川絹次郎



動物が健康で  
安心できる生活を送れるように

# 病理 TOPICs : 意外と奥深い固定について



正確な診断結果を得るためには、検体を適切な方法で固定し、送付していただく必要があります。この過程をおざなりにすると、いわゆる固定不良の状態となり、組織に自己融解や腐敗が起ってしまい、十分な形態学的観察が困難となってしまいます。今回の病理TOPICsでは、意外と奥深い固定に関する豆知識をご紹介します。少々マニアックな内容となりますが、お付き合いいただければ幸いです。

## ◆ 固定とは？

固定とは、蛋白質の腐敗や分解を防ぐ手法であり、蛋白質をはじめとする組織の構成成分やその形態を、可能な限り生体内に近い状態に保つことを目的としています。その方法には大きく分けて**凍結固定**・**凝固固定**・**架橋固定**の3種類があります。

### ① 凍結固定

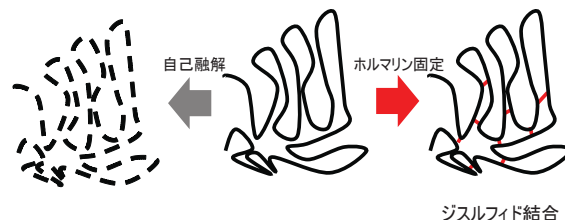
採材した生の組織を瞬間的に凍結し、固定する手法です。切片作製には特別な設備や液体窒素が必要で、一度に大量のサンプルを処理するには向きませんが、通常包埋過程で溶出してしまう脂肪や、変性を受けやすい抗原の証明に有利な手法です。また、迅速に固定できることから、術中迅速診断で利用されます。

### ② 凝固固定

脱水操作によりタンパク質の親水性を減少させ、疎水結合を破壊する固定法です。アルコール固定やアセトン固定などがこれに含まれます。脱水により細胞が収縮し、ややギュッと詰まったような組織像になります。水を用いないため、水溶性分子の保存性に優れています。

### ③ 架橋固定

生体分子間に共有結合をつくることによる固定法です。ホルマリン固定やグルタルアルデヒド固定などがこれに含まれ、病理検査において最も一般的に用いられる固定法です。タンパク質同士の架橋（ジスルフィド結合）によってタンパク質の構造が変化してしまうため、免疫染色を実施する場合には特別な前処理（抗原賦活化）を必要とする場合があります。



## ◆ ホルムアルデヒド系の固定液について

一般的な病理検査で使用される固定法は③架橋固定です。一概に架橋固定の固定液といっても様々な種類があります。

### ・ホルマリン固定液

病理検査で一般的に用いられるホルマリン固定液とは、「ホルムアルデヒド水溶液」のことを指します。ホルマリン原液として販売されているものは37%のホルムアルデヒド水溶液なので、10%ホルマリンとは実際には約4%ホルムアルデヒド水溶液のことを意味します。また、ホルムアルデヒドはそれ自身でつながり合う性質があり、長鎖状につながってパラホルムアルデヒドを形成します。遊離した単体ホルムアルデヒドが多いほど、固定力は強くなります。市販のホルマリン液はパラホルムアルデヒドの生成を抑える目的で、メタノールを混ぜている場合が多く、架橋固定と凝固固定を兼ね備えており、強い固定力を有しています。

### ・中性緩衝ホルマリン固定液

希釈する溶媒にリン酸緩衝液を用いた場合、10%中性緩衝ホルマリンと称します。ホルマリンは自然酸化により蟻酸を生じ酸性となる為、時間と共に本来の固定効果が妨げられてしまいます。緩衝液を加えることで固定液のpHは約7.4に維持され、酸による影響を抑えることができます。

### ・パラホルムアルデヒド固定液

酵素染色、特定の免疫染色など特殊な検索を行う場合には、局方ホルマリンに少量含まれるメタノールが反応阻害を起こす為、純粋なホルムアルデヒド水溶液（パラホルムアルデヒド固定液）を使用する場合があります。固定液としての安定性が低いため、必要に応じて作製し、2週間以内に使い切ることを目安としてください（作製後の保管は冷暗所）。

## Question : 検体の適切な固定法は？

ホルマリンは組織の表面から内方に浸透していきます。標準的な浸透速度は1時間当たり1mmですが、肝臓や脾臓等の充実性臓器や充実性腫瘍では、浸透速度は一昼夜でも数mm程度とされています。

また、漿膜に包まれた臓器は固定液が浸透しにくいので、剖面を入れるなどして対処する必要があります（剖面を入れることで体積に比してホルマリン液に接する表面積を増加させることができます）。ただし、マージン判定が必要な臓器については、判定が必要な領域に剖面は入れないでください。例えば、皮膚腫瘍の場合には、腫瘍の底部や側方ではなく、上部（皮膚側）から剖面を入れてください。

適切な固定液の容積は、組織1に対して、10%~20%ホルマリン固定液5~10以上が目安となります。肺など浮遊臓器は、固定液の上からガーゼをかぶせるなどして、表層にも固定液が接するようにしてください。