

氏名 ○山本 直樹

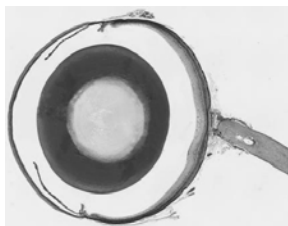
所属 藤田保健衛生大学 共同利用研究施設 分子生物学・組織化学

角膜・水晶体・網膜などの眼球組織，皮膚の角質層や皮下脂肪，および三次元培養皮膚モデルなどに対して，従来のホルマリンを中心とした固定法では綺麗な（≒生体組織の状態を保持した）標本作製することは非常に難しい。一方，電子顕微鏡用の標本作製では，グルタルアルデヒド・オスミウム固定と樹脂包埋などを行い，標本作製するため組織形態はほぼ完全に保持した標本作製することができるが，専用機器を必要とすることや抗体を用いた酵素抗体免疫染色などによる組織検索には高度な技術を要する。

このワークショップでは，組織標本の作製が特に難しいとされている眼球，皮膚，および三次元培養皮膚などの標本作製のポイントについて実際の組織標本などを供覧しながら解説する。

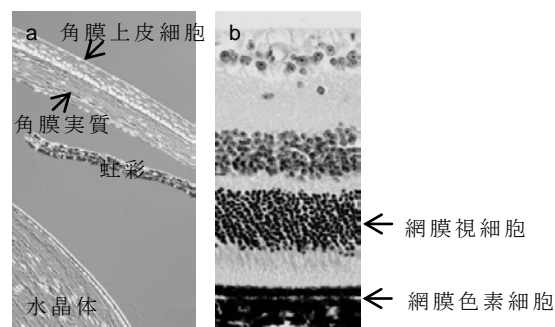
組織標本の作製において，固定状態の良し悪しで出来上がりの標本の綺麗さが左右されると言っても過言ではない。山本は，2000年頃から最も標本作製が難しい組織の1つである水晶体において，綺麗な組織標本作製できる条件を検討した。そして，新しい固定理論に基づく固定液を開発し，2005年に特許を取得〔特許第3723204号〕，この特許に基づいた固定液（組織用迅速固定液：スーパーフィックス，KURABO）が2007年10月から販売された。この固定液を用いることで，マウス眼球の水晶体のみならず，眼球のままで固定しても綺麗な組織標本が作製できるようになった（図1）。

図1. マウス眼球のパラフィン標本



また，従来の固定液では，組織を構成している細胞の種類や組織の収縮度合いの違いによって，角膜組織（図2a）における角膜上皮細胞と角膜実質の間での裂け目，網膜組織（図2b）における網膜細胞層（視細胞）と網膜色素上皮細胞の間での解離（剥離）などといったアーティファクトが観察されていたが，スーパーフィックスを用いることで，本来の生体組織の状態で作製できるようになった。

図2. マウスの角膜と網膜の組織標本



さらに，皮膚組織（図3）や三次元培養皮膚モデル（図4）では，表皮層上部から角質層（角化層）にかけて，裂け目（☆）が観察されることがある。このような場合でも，スーパーフィックスを用いることにより，本来の形態を保持した標本作製できるようになった。

図3. ヒト皮膚組織のパラフィン標本

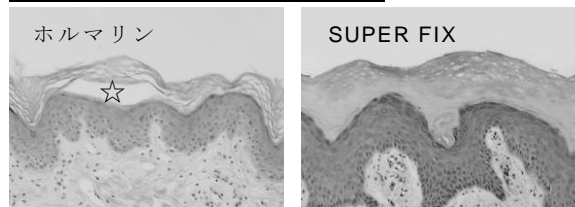


図4. 培養皮膚モデル(EPI-200, KURABO)のパラフィン標本

