

利用微波促进组织抗原恢复在石蜡切片免疫组化染色中的应用

梁英杰^① 吴惠茜 林汉良

(中山医科大学病理学教研室; 广州, 510089)

提 要 将石蜡切片浸泡于抗原恢复液,利用微波进行高强度辐射,以恢复组织中因甲醛固定而被封闭的抗原,提高抗原的检出率和染色强度。结果表明,抗原被封闭的组织经抗原恢复处理后,免疫组化染色强度有不同程度的增加,获得了满意的染色效果。一些常规免疫组化方法呈细胞角蛋白,波形蛋白和结蛋白染色阴性或弱阳性的组织,特别是经甲醛长时间固定的组织因抗原的恢复而呈阳性或强阳性反应。这对改善免疫组化染色效果,提高外科病理对肿瘤的鉴别诊断水平,对经甲醛长时间固定的尸解组织进行回顾性免疫组化研究有一定的意义。

主题词 免疫组织化学; 抗原; 甲醛; 微波

中图分类号 R361

免疫组织化学是用特异性抗体将组织中相应的抗原进行显色定位,因而组织中的抗原是否被保存及暴露十分重要。外检组织和尸解组织通常采用10%甲醛液固定。由于甲醛长时间的固定以及固定失当而使组织中的抗原被封闭,影响了第1抗体与组织抗原的结合,导致组织切片免疫组化染色不良甚至失败。尽管在进行染色之前用蛋白酶来消化切片有助于暴露组织中的抗原^[1],但这种作用有一定的限度,而且一些组织抗原在染色之前不能用蛋白酶来消化切片,如波形蛋白染色前切片用蛋白酶消化后,染色效果更差。本文介绍用组织抗原恢复液作用于石蜡切片,并用微波进行辐射,以促进组织中被封闭的抗原恢复,使石蜡切片细胞角蛋白(cytokeratin),波形蛋白(vimentin)和结蛋白(desmin)免疫组化染色强度得到提高。一些因甲醛过度固定而使免疫组化染色阴性或弱阳性的组织因抗原的恢复而得到阳性或强阳性的染色效果。这为在外科病理诊断中对癌、

间叶源性肿瘤以及肌源性肉瘤的鉴别诊断及进行对尸解组织回顾性免疫组化研究提供很大的帮助。

1 材料与方 法

1.1 材 料

微波炉为National NN-5250型,最大输出功率700W。抗原恢复液为1%硫酸锌水溶液或1%醋酸铅水溶液。外检组织(如胃癌、乳腺癌、肺癌、横纹肌肉瘤等)经10%甲醛液固定1~2d,尸解组织10%甲醛液固定超过1周。组织常规脱水透明,石蜡包埋。免疫组化试剂均为进口产品。

1.2 方 法

①切片厚4 μm,贴在涂胶玻片上,60℃烤片1h。②切片脱蜡至水。③3% H₂O₂消除内源性过氧化物5 min,蒸馏水洗2次,每次3 min。④将切片浸泡在抗原恢复液中放入微波炉,用最大功率辐射至沸腾共10 min,自

① 第一作者,1962年出生,男,主管技师

然冷却后蒸馏水洗 3 min, PBS 洗 3 min。⑤按免疫组化 ABC 法进行孵育染色。并作常规免疫组化染色对照。

2 结 果

经抗原恢复处理后,细胞角蛋白,波形蛋白和结蛋白免疫组化染色比常规染色均有不同程度的改善,一些常规免疫组化染色弱阳性或阴性的组织经抗原恢复处理后得到强阳性或阳性的效果,同时可以增大第 1 抗体的稀释度或缩短染色孵育时间^[2,3]。

3 讨 论

免疫组织化学染色的成败很大程度上取决于组织内抗原的保存及暴露,为此需根据组织中待检测的抗原选择适当的固定液,如 B₅ 固定液能很好地保存淋巴细胞的膜抗原和免疫球蛋白。通常外检组织和尸解组织均用 10% 甲醛液进行固定。甲醛在固定组织过程中常会造成组织内蛋白质的广泛交联,导致组织内蛋白抗原被封闭而影响抗原的显色定位。通常在染色前用蛋白酶消化切片来重新释放抗原,或者采用高敏感的免疫组化方法来改善抗原的显色定位效果。但这些作用有一定的限度,特别是组织经甲醛液长时间固定,抗原被封闭明显时,这些作用更显得有限了。利用微波辐射在抗原恢复液内的石蜡切片,可以使被封闭的抗原得以恢复,从而增加免疫组化的染色强度,提高抗原的检出率。

抗原恢复的机制还不完全清楚,可能因为甲醛与组织中的抗原蛋白发生许多而复杂的化学反应而形成的基团,把蛋白分子或分子内的肽链交联起来(即组织抗原被封闭),

但这些交联可以因水解而断离。组织切片在抗原恢复液中用微波加热水解,使组织中甲醛与抗原蛋白之间的交联被水解而断离,从而使蛋白抗原得以恢复。微波要用最大功率,低微波或不用微波则作用弱或不起作用。水解切片时加入抗原恢复液,是因为其中的铗离子和铅离子可起加强水解的作用。

抗原恢复的作用并不是绝对的,这与不同的组织抗原和抗原被封闭的程度有关。如果组织固定得当,抗原保存得好,则没有必要进行抗原恢复处理。如果组织固定不当,抗原被严重封闭,或者在制片过程中被破坏,那么即使经抗原恢复处理也不能明显地甚至不能将特异抗原恢复。此外,抗原恢复处理,除了细胞角蛋白,波形蛋白和结蛋白 3 种抗原外,对其他许多抗原的免疫组化染色也有同样的作用^[4]。

参 考 文 献

- 1 蔡文琴,王伯潭. 实用免疫细胞化学. 成都:四川科学技术出版社, 1988. 8~9
- 2 梁英杰,孔伟贞,凌启波. 微波在特殊染色和免疫组化染色中的应用. 中华病理学杂志, 1992, 21(2): 77
- 3 Leong AS, Milios J. Accelerated immunohistochemical staining by microwaves. J Pathol, 1990, 161: 327
- 4 Shi SR, Key ME, Kalra KL. Antigen retrieval in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue: An enhancement method for immunohistochemical staining based on microwaves oven heating of tissue sections. J Histochem Cytochem, 1991, 39: 741

(1994-10-24 收稿 1995-07-29 修回)

APPLYING MICROWAVE TO PROMOTE THE RETRIEVAL OF TISSUE ANTIGENS IN PARAFFIN-EMBEDDED TISSUES FOR IMMUNOHISTOCHEMICAL STAINING

Liang Yingjie Wu Huixi Lin Hanliang

(Department of Pathology, Sun Yat-Sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510089)

A method for retrieving tissue antigens is introduced that is soaking sections in antigen retrieval solution and then radiating with microwave. This treatment may retrieve tissue antigens and increase the intensity of immunohistochemical staining getting desirable result. Some tissues, especially the tissues were fixed in formaldehyde for a long time which showed weak or negative immunohistochemical staining for cytokeratin, vimentin and desmin can get strong or positive reaction. This method will be significant for differentiated diagnosis and retrospective analysis of pathology on tissues which were fixed improperly or for a long time (autopsy tissue) in formaldehyde.

Subject headings immunohistochemistry; antigen; formaldehyde; microwaves