

免疫学的ならびに病理組織学的解析方法

1. 腫瘍組織の解析

- ① 摘出前立腺の4 mm スライスホルマウントスライドを作成し、腫瘍のマッピングを行い、全前立腺体積、全腫瘍体積、殺細胞効果範囲 (affected tumor volume) を計測する。
- ② パラフィン包埋した組織を脱パラフィン処理し、Mol Ther 13: 727-728, 2006 に記載された方法に則って、Tunnel 染色によるアポトーシスの検定、CAR に対する抗体を用いた CAR 発現細胞の検出を行う。
- ③ ホルマリン固定パラフィン包埋ホルマウント標本で抗 CD20 抗体 (B cells) (Dako)、抗 CD8 抗体 (killer T cells) (Neomarkers)、抗 CD68 抗体 (macrophages) (Dako)、抗 CD3 抗体 (T cells) (Dako) および抗 CD4 抗体 (helper T cells) (Dako) を用い、アビジン・ビオチン・ペルオキシダーゼ複合体 (ABC) 法で免疫染色を行う。
- ④ Pathological stage、Gleason grade がマッチしたもの*をコントロールとし、局所免疫反応を評価する。
- ⑤ 上の②、③、④は、コンピューターイメージ解析 (Optimas 6.1) を用いた定量評価で行う。

* 当院で過去に診断された前立腺癌病理標本を対象とし、書面による同意取得を行う。

2. リンパ節の免疫組織学的解析

- ① 前立腺全摘除術の施行時に、同じく郭清したリンパ節検体を用いる。
- ② パラホルムアルデヒドで固定後、抗 CD20 抗体 (B cells) (Dako)、抗 CD8 抗体 (killer T cells) (Neomarkers)、抗 CD68 抗体 (macrophages) (Dako)、抗 CD3 抗体 (T cells) (Dako) および抗 CD4 抗体 (helper T cells) (Dako) を用い免疫染色を行う。
- ③ 上記はコンピューターイメージ解析 (Optimas 6.1) を用いた定量評価で行う。

3. リンパ節由来リンパ球の機能解析