

臨床検査技師によるリンパ節検索

～脂肪分解酵素溶液 ImofullyTMの使用経験と当院における大腸癌所属リンパ節検索の実際～

◎都丸 桜子¹⁾、須藤 健治¹⁾、竹内 美恵¹⁾、鈴木 忍¹⁾、大山 由貴¹⁾、荻原 優貴¹⁾、中山 雅彦¹⁾
富岡地域医療企業団 公立富岡総合病院¹⁾

【はじめに】大腸癌病期進行度を診断する際、所属リンパ節転移の有無、ならびに総数は重要な情報となる。通常大腸癌におけるリンパ節検索は外科医が行い、腸間膜の脂肪組織に埋もれたリンパ節を指触にて検索するため経験と時間が必要とされる。今回、脂肪組織を酵素によって溶解しリンパ節検索を容易にする試薬、脂肪分解酵素溶液 Imofully(シスメックス株式会社)の使用を開始し、その経験と当院における大腸癌所属リンパ節検索での運用を報告する。また、従来外科医によって運用されてきた大腸癌所属リンパ節検索(従来法)と臨床検査技師(検査技師)によるリンパ節検索を比較・検討した。

【Imofully の組成・使用方法】Imofully は脂肪分解酵素、コラーゲン分解酵素を主成分とするリンパ節検索補助試薬である。使用方法は、摘出された組織に切れ込みを入れた後、組織と試薬をポリ袋に入れ、ポリ袋ごと 37±5℃の湯浴中に静置する。30 分～2 時間後、トレイにガーゼを広げその上に内容物を取り出す。ガーゼの上から試料を圧迫し過剰な試薬と溶けた余剰組織を吸着させ、ハサミやピンセット等

を用いてリンパ節を試料から分離する。

【運用方法】摘出した腸間膜を一塊で病理検査室に提出してもらい、業務時間内に提出された場合は Imofully によりリンパ節検索を行う。業務時間外に提出された場合は 10% 中性緩衝ホルマリンで固定後、脱脂液(エタノール 100(武藤化学株式会社)とクリアプラス(株式会社ファルマ)混合液)にて脱脂し、リンパ節検索を行う。

【比較・検討】当院において 2017 年 1 月～2018 年 6 月に提出された大腸癌の所属リンパ節 104 例を検査技師によりリンパ節検索をし、摘出したリンパ節の総数を計数した。比較対象として、2016 年に従来法により摘出した大腸癌所属リンパ節 77 例を計数した。

【結果】大腸癌症例において、Imofully と脱脂液を併用することで摘出リンパ節の総数は従来法と比較して減少することはなかった。このことから大腸癌所属リンパ節検索は検査技師でも可能であると推察される。

連絡先:0274-63-2111(内線 2136)

群馬県における原発性肺癌のバイオマーカー検査に関する実態調査

～群馬県臨床検査技師会病理・細胞診研究班アンケート結果報告～

◎樋口 由美子¹⁾、須藤 健治²⁾、立澤 春樹³⁾、竹渕 友弥⁴⁾、布瀬川 卓也⁵⁾、中澤 寛人⁶⁾、武田 将英⁷⁾、栗原 康哲⁴⁾
SUBARU健康保険組合 太田記念病院¹⁾、富岡地域医療企業団 公立富岡総合病院²⁾、前橋赤十字病院³⁾、国立大学法人 群馬大学医学部附属病院⁴⁾、群馬県立がんセンター⁵⁾、伊勢崎市民病院⁶⁾、館林厚生病院⁷⁾

【はじめに】病理組織検査は、近年のゲノム医療やコンパニオン診断の進展に伴い、患者の治療選択に重要な役割を担う。このため病理組織・細胞診検査の精度管理ならびに品質管理の取り組みは重要と考える。群馬県臨床検査技師会病理・細胞診研究班では肺癌における病理組織・細胞診検査の取り扱いとバイオマーカー検査結果のアンケートを実施したので報告する。

【方法】群馬県内の15施設へアンケートを送付。調査期間は2017年4月～2018年4月まで、項目は①プレアナリシス段階について②PD-L1検査について③EGFR遺伝子変異検査・ALK融合遺伝子検査について④その他、質問点・疑問点など自由記載の4分類について実施した。

【結果】回収率は80%で12施設より回答を得た。①手術検体は摘出から固定までの時間は3時間以内が83%、固定時間は手術検体で48時間以内が73%、72時間以上が7%みられた。生検検体はすべての施設で48時間以内であった。使用ホルマリンは生検検体ではすべての施設で10%中性緩衝ホルマリンを使用していた。自動包埋装置におけるパラ

フィン設定温度は60～65℃に分布しており、65℃が40%を占めた。セルブロック作製方法は3種類みられた。②PD-L1検査は非小細胞肺癌734症例のTPS(Tumor Proportion Score)別分布は高発現が約2割、陽性が約4割、陰性は約3割であった。院内実施は無く、すべて外部委託であった。③EGFR遺伝子変異検査における690症例の陽性率は約30%、ALK融合遺伝子検査504症例の陽性率は3%であった。

【考察】手術検体の固定は医師がおこなっている施設が54%あり、摘出から固定までの時間が把握できない可能性が推察される。固定時間は平均値のため休前日の固定は延長が考えられる。PD-L1検査は既出の臨床試験と概ね同様の結果となった。今後、増加が予想されるゲノム医療やコンパニオン診断を踏まえ、病理組織・細胞診検査はより厳格な品質管理ならびに精度管理、標準化が求められると推察される。実態調査が精度向上ならびに標準化の一助になると期待する。

(連絡先：太田記念病院 臨床検査部 TEL：0276-55-2200)

免疫組織化学における標準化の注意点

◎村田 佳彦¹⁾、中川 智貴¹⁾、馬場 正樹¹⁾、中島 世莉奈、杉山 葉、古屋 周一郎¹⁾
筑波大学附属病院¹⁾

【はじめに】当院では2014年1月からAgilent Technologies社のEnVision™ FLEX 検出システムを導入している。FLEXシステムでは、専用試薬ボトルによる抗体の使用期限など管理や、High pHの賦活液を使用した高い検出感度を特徴とする最適化された方法である。また、抗体によってはLow pHの賦活液の使用を推奨しているものもあり、抗体ごとに免疫組織化学が適正に行えるようになっている。以前我々は、c-kitの免疫組織化学においてHigh pHの賦活化によって平滑筋腫に偽陽性が起こり得ることを報告した。過度な賦活効果による偽陰性に十分注意して、抗体の賦活条件や希釈倍率を検討しなければならないと考えられた。当院では、免疫組織化学の標準化の観点から、使用抗体を順次専用ボトルに充填された抗体に切り替えている。Ki-67は乳癌サブグループの分類に用いられ、p53は腺癌と腺腫の鑑別に用いられる重要な抗体である。今回我々は、これらの抗体についてFLEXシステムに切り替えることとなったので、その際の注意点について報告する。

【方法】以前にKi-67(希釈倍率1:100)染色が行われた乳癌

手術検体3例(それぞれ高発現、中発現、低発現であった症例)、およびp53(希釈倍率1:100)染色が行われた大腸EMR検体3例(carcinoma in adenoma)について、FFPEから3μm厚の切片を作製した。これらを対象に、Agilent Technologies社のPTLinkを用いて賦活化を行い、Autostainer 48にてEnvision™ FLEXシステムを用いてKi-67とp53の免疫染色を行った。染色条件は推奨プロトコールを中心に賦活液や染色時間などを検討した。

【結果】Ki-67では、推奨プロトコールであるLow pHで賦活化を行い、一次抗体20分、二次抗体20分の染色において、以前と同様の染色性が得られた。p53では、推奨プロトコールであるHigh pHでは、従来の染色性に比し、過染傾向にあった。

【まとめ】免疫組織化学の標準化を考慮する際には、これまでの染色結果と大きく解離がないことを確認すると同時に適正な結果が得られていることを確認して進めることが重要である。

連絡先－筑波大学附属病院病理部 029-853-3865

透過型電子顕微鏡で気管支線毛を観察したカルタゲナー症候群疑いの一例

◎飛田野 清美¹⁾、二階堂 貴章¹⁾、本望 一昌¹⁾、小瀬川 順幸¹⁾、芳賀 美子¹⁾
自治医科大学附属病院¹⁾

【はじめに】

カルタゲナー症候群は内臓逆位、慢性副鼻腔炎、気管支拡張症を3主徴とし、原発性線毛運動異常症の約半数を占める。当院でカルタゲナー症候群疑い患者の気管支線毛を透過型電子顕微鏡で観察したので報告する。

【症例】49歳女性。内臓逆位＋繰り返す肺炎カルタゲナー症候群疑い。

【方法】

気管支生検検体をグルタルアルデヒド固定、細切後にオスミウム酸で後固定、エポキシ樹脂包埋をした。準超薄切しトルイジン青染色。超薄切後にOTE染色＋電子染色を行い、電顕観察を行った。

【結果】

多くの線毛で微小管の9+2構造は保たれていたが、ダイニンアームの異常、中心細管の欠損、周辺微小管の単管構造などが散見された。他に1本の線毛内に複数の微小管を有するもの（compound cilia）が多数認められた。

【考察】

線毛観察には超薄切が重要である。すなわち線毛に対して直角に超薄切が為されていなければ線毛内の微小管構造をきちんと捉えることができない。線毛の輪切りを観察するために、固定時の検体細切や準超薄切片での光顕観察も重要であった。また線毛の変性（アーティファクト）を防ぐためには、検体を採取したら直ぐに電顕用固定液に入れることが大切であると考えた。

電顕観察目的がダイニンアームである場合は、検体をタンニン酸加グルタルアルデヒドで固定することが推奨されている。今回、通常のグルタルアルデヒド固定液で速やかに固定し、通常電子染色の前にOTE染色を施したことにより、線毛内微小管構造が明瞭に観察出来たと思われた。線毛の多彩な構造変化を呈した電顕像がみられたが、複数の微小管構造を持つ線毛は後天的原因でもみられるとされ、電顕所見での不動線毛症の病理確定診断には至らなかった。しかし線毛の微細構造観察を電顕的に行ったことは有意義であったと思われた。

連絡先：0285-58-7186