

Rapid

Immunohistochemistry

Study Group



第八回迅速免疫染色 研究会

「迅速免疫染色の地域医療への貢献」

プログラム・抄録集

日時：2016年10月15日（土） 13:00～18:00

会場：仙台厚生病院 熊谷・海老名ホール

学術集会長：遠藤希之(仙台厚生病院 臨床検査センター センター長)

事務局：赤平・諸橋(仙台厚生病院 臨床検査センター)

〒980-0873 宮城県仙台市青葉区広瀬町 4-15

TEL 022-722-2757/FAX 022-722-2758

E-mail: jinsoku8@sendai-kousei-hospital.jp

主催：第八回迅速免疫染色研究会



抗悪性腫瘍剤 抗VEGF^{注1)}ヒトモノクローナル抗体
生物由来製剤、創薬、処方箋医薬品^{注2)}

アバスタチン[®] 点滴静注用 **100mg/4mL**
400mg/16mL
AVASTIN[®] bevacizumab
ペバシズマブ(遺伝子組換え) 注

抗悪性腫瘍剤
上皮増殖因子受容体(EGFR)チロシンキナーゼ阻害剤
創薬、処方箋医薬品^{注2)}

タルセバ錠 **25mg**
100mg
150mg
Tarceva[®] エルロチニブ塩酸塩錠

抗悪性腫瘍剤/ALK^{注3)}阻害剤
創薬、処方箋医薬品^{注2)}

アレセンサ[®]カプセル **20mg**
40mg
150mg
ALECENSA[®] アレクチニブ塩酸塩カプセル

注1) VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor(血管内皮増殖因子) 注2) 注意-医師等の処方箋により使用すること 注3) ALK: Anaplastic Lymphoma Kinase(未分化リンパ腫キナーゼ)

※効能・効果、用法・用量、警告・禁忌を含む使用上の注意は製品添付文書をご参照ください。

(資料請求先)
製造販売元 **中外製薬株式会社** 〒103-8324 東京都中央区日本橋室町2-1-1

ホームページで中外製薬の企業・製品情報をご覧ください。
<http://www.chugai-pharm.co.jp>

2015年11月作成

第八回迅速免疫染色研究会

- テーマ「迅速免疫染色の地域医療への貢献」
- 日時 2016年10月15日(土) 13:00～18:00
- 場所 仙台厚生病院 熊谷・海老名ホール
仙台厚生病院 〒980-0873 宮城県仙台市青葉区広瀬町 4-15
- 参加費 1000円
世話人会長: 遠藤希之(仙台厚生病院 臨床検査センター・センター長)
第八回迅速免疫染色研究会事務局担当: 赤平純一(仙台厚生病院 臨床検査センター)
TEL: 022-722-2757/FAX 022-722-2758
E-mail: jinsoku8@sendai-kousei-hospital.jp

*本研究会参加により細胞検査士資格認定更新ポイントが付与される様、申請中です。

プログラム概要

受付: 10月15日(土) 12:00- (仙台厚生病院 管理棟入口受付デスク)

スライド受付: 同上

幹事会: 10月15日(土) 13:00-13:15 (仙台厚生病院 管理棟 中会議室)

オープニングリマークス 13:20-13:35

南谷佳弘(秋田大学大学院医学系研究科 胸部外科学講座)

特別講演 13:35-14:20

「現場からの医療改革 東北から新しい医療が生まれる」

上 昌広(NPO 法人医療ガバナンス研究所 理事長)

教育講演(1) 16:50-17:25

「テレパソロジーの現状と展望」

渡辺 みか(東北大学病院 特任教授 がんセンター・テレパソロジーセンター長)

教育講演(2) 17:25-18:00

「細胞診にも使える新しい抗体」

柳田 絵美衣(神戸大学大学院医学部附属病院 病理部 先端組織染色センター)

一般演題 8題 14:35-16:35

懇親会 19:00～

べこ政宗 名掛丁店 宮城県仙台市青葉区中央 1-8-32

TEL 022-217-1151 <http://www.bekomasamune.com>

会場案内

仙台厚生病院案内図



○病院正面より、左手に管理棟がございます。

ごあいさつ

迅速免疫染色研究会、末広りの第「八」回は、宮城仙台で催すことになりました。世話人会と会員の皆様、本当にありがとうございます。

昨今、関係者のご努力、学会発表などのおかげで、迅速免疫染色と「ラピート」の認知度がかかなり高まってきていると感じます。また、免疫染色のみならず *in situ hybridization* が可能な機器の実地試験を行っている事、自動化の目処も経ち始めている事なども噂レベルを越えて「結構すごいらしい」という声も聞こえてきました。

さて宮城、仙台も震災からすでに五年、少しずつ復興が進み、今年は G7 財務相会議の舞台にもなりました。ただし沿岸部や宮城県もさることながら、東北各県は慢性的な医療過疎に苦しんでいます。当然、絶滅危惧種と揶揄される病理医は全く足りず、臨床検査技師を募集しても地方の中小病院にはなかなか来てもらえない状況が続いています。実は、青森、岩手、秋田の三県の面積を合わせるだけで三万六千 Km² を越え、九州全体よりも広い面積になります。人口密度は低いにせよ、いや密度が低いからこそ、地域医療を支えるためには、とりわけ創意工夫が必要とされる医療圏なのです。

そこで今回は「迅速免疫染色が地域医療にどのように貢献出来るか」という主題をテレパソロジーシステムなどと合わせ考えつつ、今後の迅速免疫染色や迅速 ISH の発展について大いに議論、情報交換ができればと考えています。

もちろん、機器の開発者、マーケティング担当者、臨床検査技師、病理診断医、そして臨床医、あらゆる領域からの職種横断的なご発表があつてこそその本会です。どなたにおかれましても遠慮はご無用です。

秋の東北は紅葉とともに山の幸、海の幸がとても豊富です。また温泉番付の東横綱・鳴子温泉を始め、名湯、秘湯、美肌の湯もお待ちしております。議論に汗をかいたあとは、佳い温泉で体を休め、山海の幸で英気を養っていただけたことと思います。

みなさま、ぜひ、ご参会下さいますようお願いいたします。

仙台厚生病院 臨床検査センター・センター長
遠藤 希之

プログラム

13:15-13:20 開会の挨拶: 遠藤希之(仙台厚生病院 臨床検査センター)

13:20-13:35 オープニングリマークス

座長: 遠藤 希之(仙台厚生病院 臨床検査センター)

演者: 南谷佳弘(秋田大学大学院医学系研究科 胸部外科学講座)

13:35-14:20 特別講演

座長: 遠藤 希之(仙台厚生病院 臨床検査センター)

演題: 「現場からの医療改革 東北から新しい医療が生まれる」

演者: 上 昌広(NPO 法人医療ガバナンス研究所 理事長)

Coffee Break 15分

14:35-15:35 一般演題 (1)

座長: 森谷 純 (北海道大学院医学研究科 病理学講座 腫瘍病理学分野)

1. LBC 用撥水コーティングスライドと電界攪拌免疫染色装置を用いた迅速免疫細胞化学染色(R-ICC)の試み

伊藤 智 (秋田大学医学部附属病院 病理診断科・病理部)

2. IQ FISH FAST Hybridization Buffer を用いた他社 FISH プローブでの迅速化

遠藤 亮和 (神戸大学医学部附属病院 病理部)

3. Novel method for rapid in-situ hybridization of HER2 using noncontact alternating-current electric field mixing. (電界非接触攪拌技術を応用した rapid in situ hybridization の開発)

齋藤 芳太郎 (秋田大学医学部医学科 胸部外科)

4. 腹部手術における R-IHC 併用病理診断の現状と課題

廣嶋 優子 (秋田大学医学部附属病院 病理診断科・病理部)

プログラム

15:35-16:35 一般演題 (2)

座長: 赤平 純一(仙台厚生病院 臨床検査センター)

5. 肺腫瘍術中迅速診断における R-IHC の有用性の検討

今野 隼人 (秋田大学大学院医学系研究科 胸部外科学講座)

6. R-IHC を使用した HNF 4 α 迅速免疫染色による胃がん体腔液術中細胞診断

池田 聡 (土浦協同病院 病理診断部)

7. 電界非接触攪拌技術を用いた乳癌におけるセンチネルリンパ節の術中迅速診断

寺田 かおり (秋田大学医学部 胸部外科)

8. 脳腫瘍術中迅速病理診断における迅速免疫染色装置 (ラピート) の有用性の検討

森谷 純 (北海道大学院医学研究科 病理学講座 腫瘍病理学分野)

Coffee Break 15 分

16:50-18:00 教育講演

座長: 南條博(秋田大学医学部附属病院 病理部)

(1) 演題: 「テレパソロジーの現状と展望」

演者: 渡辺 みか(東北大学病院 特任教授 がんセンター・
テレパソロジーセンター長)

(2) 演題: 「細胞診にも使える新しい抗体」

演者: 柳田 絵美衣(神戸大学大学院医学部附属病院 病理部
先端組織染色センター)

オープニングリマークス

座長 遠藤 希之 (仙台厚生病院病理診断科)

演者 南谷佳弘

(秋田大学大学院医学系研究科

胸部外科学講座)

特別講演

座長 遠藤 希之（仙台厚生病院 病理診断科）

演題 「現場からの医療改革 東北から新しい医療が生まれる」

演者 上 昌広(NPO 法人医療ガバナンス研究所 理事長)

私は、今春、10 年間勤務した東大医科研を辞し、研究室のスタッフとともに、新たに設立した特定非営利法人医療ガバナンス研究所に移った。

私は 48 才。残りの医師人生を人材育成に費やしたい。そのためには独立したほうがいいと考えた。

若き医師は、様々な経験を積み重ねることで成長する。私たちがすべきことは、彼らに良い環境を提供することだ。

このことを大学でやるには限界がある。スピードと資金が不足しているからだ。

もし、活動資金を税金に依存しなければ、高い生産性を維持しながら、自由に活動できるはずだ。現に米国では NPO や非政府組織（NGO）が研究分野でも大きな役割を果たしている。

幸い、医師はプロフェッショナルだ。患者を診療して、対価を得ることが出来る。組織を離れても生きていける。

臨床研究では、新薬や特別な検査を使わない限り、大半の費用は診療報酬で賄われる。基礎研究のように、すべての費用を研究費として調達する必要がない。

このような特性を活かせば、診療をしながら、研究を続けることも可能だ。税金に依存しなくても、若手を育成することもできる。

医療ガバナンス研究所の理事の一人で、立川・川崎・新宿などの駅ナカでコンビニクリニックを経営する久住英二医師も、その一人だ。

久住医師は、06 年から当研究所のスタッフや学生たちとともに新宿駅西口に「コラボクリニック」を開設。約 1 年間の「社会実験」を通じ、コンビニクリニック運営のノウハウを貯め込んだ。

その後、08 年に立川駅に「ナビタスクリニック」を開業し、現在、常勤 11 人、非常勤 40 人の医師が勤務するグループを育てた。

ナビタスクリニックの売りの一つがワクチン外来だ。これまで、ワクチンや感染症に関する多くの論文を発表し、昨年はネイチャー誌にレターが掲載された。

また、ナビタスクリニックなどを手伝った大学生たちは、現在、医師、ビジネスマン、官僚、デザイナーとして社会の一線で活躍し、独自のネットワークを構築している。

東日本大震災以降、福島で活動する坪倉正治医師は、昨年、東大医科研の大学院を修了し、現在、5 カ所の医療機関、および 2 カ所の研究機関と契約している。そして、彼が稼いだ収入から年間数百万円を研究に投資している。大学生や統計家などに業務を発注し、彼らを「支援」している。

坪倉医師のチームは、福島健康問題について年間 20 報以上の英文論文を発表しているが、公的研究費は受け取っていない。

私は各地の志あるリーダーとネットワークを構築することで、若手が成長できる環境を提供できると考えている。

このような枠組みの中で、医療ガバナンス研究所の役割は事務局だ。関係者が情報をシェアし、有機的な連携ができるようにサポートする。

私は、このような活動を通じ、「官でない公」を作りたいと思う。我々の活動にご興味のある方がおられれば、ぜひ、ご連絡いただきたい。

教育講演

座長 南條 博(秋田大学医学部付属病院 病理部)

【演題 1】

テレパソロジーの現状と展望：ICT 技術を活用した新たな病理診断技術と有用性・必要性についてー

東北大学病院 病理部
渡辺みか

遠隔病理診断(テレパソロジーtelepathology)は、遠隔地から伝送された画像をディスプレイ上でみながら病理診断を行うものである。様々な応用が可能であるが、特に即時性と高い診断技術を要求され、常勤病理専門医不在の病院では通常施行困難な術中迅速病理診断は、テレパソロジーが最も威力を発揮する領域である。日本における慢性的な病理医不足と都市部への偏在、高齢化などの問題を補う手段としての有用性も高い。

東北大学病院病理部では 1994 年より 20 年以上テレパソロジーを行っており、2013 年 10 月からバーチャルスライド(VS)を用いた新たな遠隔病理診断システムを構築した。VS の制御端末には、リモートデスクトップ機能を有する遠隔会議システム Pratico を導入し、送信側施設の VS の取り込み、viewer の立ち上げと観察、画像のファイリング管理、web サーバへのアップロードなどを遠隔操作することを可能としている。有線環境下での遠隔病理診断システムに加え、VS 画像をクラウド上の web サーバにアップロードし、iPad から web サーバに VPN 接続を行うことにより、モバイル環境で病理診断支援を行えるシステムも構築している。さらに、遠隔病理診断レポートシステムも加え、遠隔より電子的に病理診断を送ることにより、印刷や郵送などにかかる負担と時間の軽減を実現した。

VS を用いた新しい遠隔病理診断システムは非常に有用性が高く、リモートデスクトップ機能を加えることで拡張性の高いシステムとなっている。無線によるモバイル環境下のシステムは病理医の自由度の増加や若手病理医の支援・教育などを可能とした。遠隔病理レポートシステムを併用し統合的な遠隔病理診断システムを構築することで、さらに効率化や省力化を実現している。今後さらなる発展を目指し、地域医療に貢献していきたい。

教育講演

座長 南條 博(秋田大学医学部付属病院 病理部)

【演題 2】

細胞診にも使える新しい抗体

柳田 絵美衣

神戸大学医学部附属病院 病理部

現在、免疫組織化学 Immunohistochemistry (IHC) は、抗原抗体反応を利用した検査であり、病理診断学において重要な役割を果たしている。日常業務では酵素抗体法と蛍光抗体法が主流であり、パラフィン切片での染色は酵素抗体法である。

日々、新たな一次抗体が登場し、今や様々な抗原の証明が可能となっている。それに加え、昨今の検査・治療において、患者の低負荷・低侵襲の検査や手術法や治療法が重視されており、細胞検査の重要性が高まってきた。そのため、細胞診検体での判定・診断依頼件数の増加している。また、術前・術中診断において、腫瘍の組織型や浸潤の有無等が確認できれば、術式・治療方針・予後予測が可能となるため、術前・術中の病理学的検査・診断は非常に重要となるのは明らかである。つまり、採取時に患者の負担が少ない細胞診検体で、早期に多くの情報を得ることは、大きな価値と意味を持ち、その可能性は期待されている。

そこで、近年、細胞診検体において特定の抗原を証明するなど、より多くの情報を得るための免疫細胞化学 Immunocytochemistry (ICC) が注目され、今後はさらに免疫細胞化学の依頼数も増加すると予測される。

しかし、数ある一次抗体の中から、適切な一次抗体を正しく選択する必要がある。また、細胞診検体と組織検体（パラフィン切片）とでは、抗原賦活化処理や染色法が異なり、注意すべきポイントがいくつか存在する。細胞診検体に応じた正しい染色を行うことが重要となる。

そこで我々は、細胞診検体を対象とした診断・判定に有用と思われる「新規マーカー」や、以前から知られているマーカーの「意外な使い方・新たな情報」を中心として、染色する上での注意点なども加えながら、婦人科検体、消化器科検体など、いくつかの症例を例に挙げ紹介していく。

さらに、パラフィン切片とは異なり、目的の細胞が唯一または少数の場合に、非常に有用性の高い、免疫多重染色の活用術も加えて紹介したい。

MEMO

一般演題 (1)

座長 森谷 純 (北海道大学院医学研究科 病理学講座 腫瘍病理学分野)

【演題 1】

LBC 用撥水コーティングスライドと電界攪拌免疫染色装置を用いた迅速免疫細胞化学染色 (R-ICC) の試み

○伊藤 智¹⁾、成田かすみ¹⁾、鈴木世志子¹⁾、三澤 桃子¹⁾、廣嶋 優子¹⁾、南條 博¹⁾

秋田大学医学部附属病院 病理診断科・病理部¹⁾

【目的】細胞診は、組織採取が困難な場合は特に重要視され、良悪性の鑑別のみならず、組織型や原発推定など確定診断が要求される機会にしばしば遭遇する。最近 6 年間の細胞診断でみると、受付件数に対する免疫細胞化学的追加検索性数は、2011 年は 7093 件中 39 件 (0.54%) であったのが、2015 年は 6207 件中 70 件 (1.12%)、2016 年は 8 月現在 3900 件中 38 件 (0.97%) と約 2 倍に増加している。さらに即日報告など、迅速に匹敵する至急検体に対しても、詳細な結果が求められる現状がある。しかし、免疫細胞化学的検索性を追加する場合、従来法では検体処理や細胞転写などに要する標本作製時間を短縮することには限界がある。また、限られた細胞量の残検体からの検索性に苦慮することも多い。このような状況を解決する目的で、LBC 標本作製用の市販の撥水コーティングガラスと電界攪拌免疫染色装置を用いた迅速免疫細胞化学的検索性 (R-ICC) を試みたので報告する。

【方法】細胞診の液状検体は、検体沈査を ThinPrepCytolyt 液で固定 (10 分)、市販の撥水コーティングスライド ϕ 13mm に 750 μ l を載せて静置 (10 分)、95%エタノールで洗浄したのち 95%エタノール入り容器で再固定した (10 分)。水和後、電界攪拌免疫染色装置を使用して迅速免疫抗体法を行った。また、細胞転写法を施行した標本は、キシレンによる脱封入剤を行った後水和し、同様に迅速免疫抗体法を行った。セルブロック標本作製可能な検体は、染色結果の比較も行った。

【結果】撥水处理ガラスと電界攪拌免疫染色装置の使用により、免疫細胞化学的検索性の時間短縮が可能であった。細胞収縮など、標本作製方法による若干の細胞形状の違いは見られるものの、従来法の免疫細胞化学標本と同様の反応結果や染色態度が得られた。

【考察】従来、細胞診検体を用いた追加の免疫抗体法は自動免疫染色装置を用い、あるいは用手法で行っていた。しかし、撥水处理ガラスを用いると電界攪拌免疫染色装置の使用が容易で、組織標本とほぼ同様に迅速な免疫染色が可能となる。2004 年から継続している乳腺センチネルリンパ節捺印細胞診のサイトケラチン (CK MNF116) 免疫染色検索性においても、最近では撥水リングに貼り付け後に捺印し、電界攪拌免疫染色装置を使用しているが、その結果は良好である。2014 年に液状細胞診検体に保険点数が加算され、今年度はセルブロックの免疫染色にも保険点数が認められた。また、撥水ガラス細胞診標本では PAS 染色などの組織化学染色においても染色性に問題はなく、微量な検体における追加検索性など、細胞診業務へのさらなる臨床応用が可能と考えられる。

【結語】市販の撥水コーティングガラスと電界攪拌免疫染色装置を用いた免疫細胞化学的検索性は、迅速な結果報告が可能であり、細胞診業務へのさらなる応用が期待される。

【演題 2】

IQ FISH FAST Hybridization Buffer を用いた他社 FISH プローブでの迅速化

○遠藤亮和¹⁾、柳田絵美衣¹⁾、伊藤智雄¹⁾

神戸大学医学部附属病院 病理部¹⁾

【背景】

従来までの FISH 法は、ハイブリダイゼーションに一晚を費やし、二日間かけて実施されている。その後蛍光顕微鏡にてシグナルをカウントしているが、FISH シグナルが検出されない、弱いまたは背景の非特異反応が強すぎるなどの様々な理由で、FISH 法を最初からやり直すことも少なくない。そのため、さらに結果報告が遅くなってしまう。また従来の Buffer にはホルムアミドが含まれ、身体にも環境にも良くない。

近年、このハイブリダイゼーション工程が 60～120 分で終了する Hybridization buffer が市販され、FISH 法も三時間で終了できるようになり、万が一やり直しても同日中に結果報告ができるようになった。しかもホルムアミドフリーである。

【目的】

他社プローブを IQ FISH FAST Hybridization Buffer(IQ Buffer)にて希釈し、三時間 FISH 法にてシグナルが検出できるか検討する。

【方法】

数種類の他社プローブを用いて、それぞれ推奨する方法にて FISH 法を実施した。

同時に同じプローブを IQ Buffer にて希釈し、推奨された三時間 FISH 法を実施した。

その他の試薬類はそれぞれのプローブの推奨する試薬を使用した。

【結果】

他社プローブにおいても IQ Buffer を用いた三時間 FISH 法は可能であり、一部のプローブでは IQ Buffer を用いたほうが綺麗なシグナルが得られた。

【考察】

IQ Buffer を用いることで様々なプローブで三時間 FISH 法が可能になり、検査をやり直しても同日中に結果が出せるようになった。また、FISH 法の工程も複雑ではなく、比較的簡便なため、やり直しの労力も少なくなる。早く結果が得られるため最初から複数条件にて FISH 法を行えば再検査の必要もなくなり、一番良いシグナルが得られた標本をカウントするだけなので、より一層 FISH 法がスムーズに行え、業務に取り入れやすくなるのではないかと考える。

【演題 3】

Novel method for rapid in-situ hybridization of HER2 using noncontact alternating-current electricfield mixing. (電界非接触攪拌技術を応用した rapid in situ hybridization の開発)

○齋藤芳太郎¹⁾、今井一博¹⁾、中村竜太²⁾、南條博³⁾、寺田かおり¹⁾、今野隼人¹⁾、赤上陽一²⁾、南谷佳弘¹⁾

秋田大学医学部医学科 胸部外科¹⁾、秋田産業技術センター²⁾、秋田大学医学部
付属病院 病理診断科³⁾

【目的】現在、乳癌患者において、HER2 遺伝子の増幅の有無により分子標的療法の適応が決定され予後が大幅に改善することが知られている。HER2 遺伝子の増幅の有無は免疫組織化学染色(Immunohistochemistry : IHC)で蛋白の発現を間接的に評価するか、もしくは in situ hybridization (ISH)で直接的に判定されている。IHC は短時間染色が可能でコストも低い、細胞膜の染色程度で診断するため定性的判定に留まる。一方、ISH は HER2/CEP17 比を算出して評価を行うため定量的判定が可能である。しかし、hybridization に要する時間が 18 時間必要であり全工程に 2 日間要する。そこで我々は、乳癌の ISH に電界非接触攪拌技術を応用し、hybridization に要する時間を 3 時間以内に短縮する rapid in situ hybridization(RISH)法を開発した。

【方法】hybridization に際し、ヒスト・テック®R-IHC のプレート加熱、80℃の加温に耐えるリング基材を選定。また、微量液滴の蒸発予防のためオイルカバー技術を開発(特願 2016-20839;電界攪拌を用いた生体分子の迅速検出法)して、hybridization に用いた。上記の技術を、hybridization と抗原抗体反応に応用することによって、全工程を 6 時間以内で完了できるプロトコルを開発した。乳癌検体 163 標本に対して RISH を行い、従来法と比較した。

【結果】RISH は乳癌検体 163 例、全例が染色可能であり、ISH の判定に問題を認めなかった。通常法の dual-color ISH(DISH)とは 95.7%(kappa coefficient=0.859, 95% CI: 0.760-0.958)と高い一致性を示した。さらに、実臨床で使用されている全自動免疫染色装置、BenchMark XT で行った DISH と、一致率 98.8%(kappa coefficient=0.960, 95% CI: 0.906-1.000)と高い一致率を認めた。

【考察】以上の結果より、RISH は実臨床応用可能なことが示された。本法を用いることで DISH 全工程が 6 時間以内で行うことが可能となるため、進行乳癌患者の治療を速やかに開始することが可能になった。そのため本法は進行乳癌患者の予後改善に寄与できると考える。

【結語】反応時間を大幅に短縮した RISH を開発した。同法は実臨床応用と考える。

【演題 4】

腹部手術における R-IHC 併用病理診断の現状と課題

○廣嶋 優子¹⁾、三澤 桃子¹⁾、成田 かすみ¹⁾、鈴木 世志子¹⁾、伊藤 智¹⁾、
鈴木 麻弥¹⁾、山本 洋平¹⁾、南條 博¹⁾

秋田大学医学部附属病院 病病理診断科・病理部¹⁾

【目的】腹部手術における迅速免疫組織化学染色（R-IHC）を用いた病理診断の現状と課題を報告し、R-IHC 技術のさらなる臨床応用の可能性を模索する。

【対象と方法】2011 年 10 月から 2016 年 9 月までの腹部手術における R-IHC 併用病理診断 40 症例。迅速診断時に凍結切片 HE 染色および捺印細胞診に加え、電界攪拌染色装置を用いた迅速免疫組織化学染色（R-IHC）を施行し、永久標本における染色結果と比較検討した。

【結果】消化器外科領域においては、膵の神経内分泌腫瘍（NET）（8 例）に対する Grading の診断の補助として Ki-67 染色を行い、永久標本との良好な相関が得られた。また、腫瘍組織型の推定を目的に、中皮腫（2 例）に対する WT-1 染色、CD146 染色、Calretinin 染色や、腹腔内の悪性リンパ腫（2 例）に対する CD20 染色等を施行し、良好な結果が得られた。また、肺小細胞癌の腹壁転移の TTF-1 染色や胆管癌などの播種病変に対する cytokeratin 染色が有用だった症例も経験している。婦人科領域においては、子宮癌のリンパ節転移検索に対し cytokeratin 染色（16 症例）を併用し、微小転移の有無の補助診断に活用した。また、卵巣腫瘍における明細胞腺癌（5 例）に対する HNF-1 β 染色や、漿液性腺癌、類内膜腺癌に対する p53 染色、ER 染色を組み合わせで施行した。泌尿器科領域においても、リンパ節転移検索や組織型推定に cytokeratin 染色等を適宜施行した。

【考察】術中迅速 R-IHC において、核抗原、膜蛋白に対する R-IHC は概ね安定した良好な染色性が得られている。しかし、偽陰性や偽陽性症例も経験している。今後、診断精度の向上を図るためには、さらなる症例の蓄積や抗体の選択などが重要と考えられる。

【演題 5】

肺腫瘍術中迅速診断における R-IHC の有用性の検討

○今野隼人¹⁾、齊藤元¹⁾、今井一博¹⁾、栗原伸泰¹⁾、藤嶋悟志¹⁾、中麻衣子¹⁾、
廣嶋優子²⁾、南條博²⁾、南谷佳弘¹⁾

秋田大学大学院医学系研究科 胸部外科学講座¹⁾、秋田大学医学部附属病院
病理部²⁾

【背景】肺は他臓器癌の転移率が高く、近年では重複癌も増加し転移性肺腫瘍の切除術も積極的に行われている。未確定診断の肺腫瘍切除症例においては術中迅速診断が必要となる。良悪性の鑑別のみならず、原発性肺癌、転移性肺腫瘍の鑑別や組織型の鑑別は術式決定に際し極めて重要である。原発性肺癌に対する標準術式は肺葉切除術および肺門・縦隔リンパ節郭清である。一方、転移性肺腫瘍に対しては十分なマージンをとった肺部分切除術が一般的である。凍結切片による迅速診断と永久標本の病理組織診断の相違は時に生じ、臨床上の問題となる。原発性肺癌が転移性肺腫瘍と診断された場合は、根治切除が施行されず、後の再開胸を要することとなる。転移性肺腫瘍が原発性肺癌と診断された場合は、過剰な肺切除が行われることになる。

これまで我々は肺腫瘍における TTF-1 抗体の feasibility study を行い、その有用性を報告してきた。

【目的】当院で施行した肺腫瘍術中迅速診断におけるヒスト・テック R-IHC の臨床的有用性を検討する。

【方法】2015 年 2 月～2016 年 5 月当科で切除術を施行した肺腫瘍症例で、病理部にて迅速診断で R-IHC を併用した 17 例を検討した。HE 染色による迅速診断に加え、R-IHC による免疫染色は規定のプロトコールに準じて行った。パラフィン包埋ブロックによる最終病理診断と比較検討を行った。

【結果】転移性肺癌の鑑別が 12 例で、既往疾患（鑑別疾患）としては大腸癌/直腸癌 5 例、膵癌 2 例、甲状腺癌 2 例、胆管癌 1 例、乳癌 1 例、子宮体癌 1 例、食道癌（腺癌）1 例であった。原発性肺癌で小細胞癌との鑑別が 2 例、腺癌／扁平上皮癌の組織型の鑑別が 2 例であった。また、肺癌と胸腺腫瘍の鑑別が 1 例であった。抗体の使用状況としては TTF-1 が 9 例、CK20 が 3 例、CK7 が 2 例、Thyroglobulin が 1 例、Synaptophysin が 1 例、CA19-9 が 1 例、ER が 1 例であった。

凍結標本と永久標本の比較検討で、すべての検体において染色性は一致しており、17 例全例で迅速診断と最終診断が一致していた。

【考察】R-IHC により術中に免疫染色が可能となったことは、診断率向上に寄与していると考えられた。免疫染色を追加しても診断に難渋する症例もあり、使用抗体の組み合わせなど今後の検討課題である。

【結語】肺腫瘍の術中迅速診断において R-IHC は有用である。正確な診断は適正な術式決定に非常に重要である。今後、多施設でその有用性を検証していく必要がある。

【演題 6】

R-IHC を使用した HNF 4 α 迅速免疫染色による胃がん体腔液術中細胞診断

○池田 聡

土浦協同病院 病理診断部

【はじめに】胃がんでは術中の腹腔細胞診は腹膜播種と同様に患者の予後因子としての意義が認められており、取扱い規約にも盛り込まれている。しかし、術中細胞診は迅速に診断しなければならないストレスの多い検査であり、診断根拠を補うため迅速 PAS 染色などの併用を行う施設もある。HNF 4 α は胃がんなどの消化器上皮細胞に発現する転写因子で、胃がんではほとんどの症例で陽性となる（他のがん細胞に陽性になることもあるが…）。今回、胃がん術中迅速細胞診にこのマーカーを利用し、R-IHC による迅速免疫染色を行って迅速細胞診断を補助することが有効か検討したので報告する。

【対象と方法】対象に 92 例の体腔液および術中体腔洗浄液を用い、HNF 4 α を用いた迅速免疫染色を行った。染色前にニチレイ社抗原賦活化液 pH9 に界面活性剤を約 0.3% 添加した液による抗原賦活化処理を 15 分を行い、水洗後 R-IHC を用いて染色を行った。R-IHC では HNF 4 α 抗体を FFPE 用の希釈倍率（200 倍）で、推奨モードで 5 分の反応を行い、続いてシンプルステイン MAX-PO を同様に 5 分反応させ DAB で発色させた。

【結果および考察】胃がんは全体で 23 例。検討では細胞診で悪性と判定された 8 例ではすべて HNF 4 α 陽性細胞が見られ、癌細胞と思われる異型細胞に特異的に染色された。胃がん以外の標本では悪性細胞にも良性細胞にも陽性反応は見られなかった。胃がんの術中細胞診として依頼があったサンプルは 14 例あった。そのうち 1 例は Pap でも陽性。3 例の鑑別困難例のうち 2 例には陽性細胞がなかったが、1 例では Pap 標本のみに異型細胞集塊があり、このスメアを脱色して免染したところ陽性となり、癌細胞と判定することができた。確実な細胞診断を行うためには免疫染色のような客観的方法を併用することは重要であり、HNF 4 α を用いた迅速免疫染色は胃がん術中迅速腹腔細胞診に有用と考えられた。

【演題 7】

電界非接触攪拌技術を用いた乳癌におけるセンチネルリンパ節の術中迅速診断

○寺田 かおり¹⁾、南條 博²⁾、伊藤 智²⁾、成田 かすみ²⁾、赤上 陽一³⁾、
中村 竜太³⁾、齊藤 元¹⁾、南谷 佳弘¹⁾

秋田大学医学部 胸部外科¹⁾

秋田大学医学部附属病院 病理²⁾

秋田県産業技術センター³⁾

【目的】乳癌において、腋窩リンパ節転移の状況は最も有効な予後因子であり、その正確な把握は局所療法、全身療法などの方針決定において極めて重要である。術中のセンチネルリンパ節生検の病理学的検索法については標準的な検索法はいまだ定められておらず、免疫染色追加の意義も定かではない。当院では、乳癌のセンチネルリンパ節生検施行時に、電界非接触攪拌技術を用いた術中迅速免疫組織診(R-IHC)を行なっている。その有用性について検討した。

【方法】2014年7月～2016年3月に、当院でセンチネルリンパ節生検を行なった乳癌患者79人からの111リンパ節を用い、術中迅速診断としてHE染色、R-IHCによるCK染色を行なった。これらと、最終診断によるHE染色、CK染色を比較し、R-IHCの診断精度について検討した。

【結果】111リンパ節中、15リンパ節に転移を認めた。術中迅速診断にR-IHCを用いることで、HE染色では検出できなかった3リンパ節の転移を検出可能であった(3/15：20%)。浸潤性小葉癌において、R-IHCにより macro metastases が明らかになった症例が1例存在した。HE染色のみでは検出困難な micro metastases の症例が2例存在した。R-IHCの感度、特異度、正診率は93.8%、100%、99.1%であった。

【考察とまとめ】現在、術中センチネルリンパ節転移診断には、OSNA法などの分子生物学的方法の有用性が示されている。しかしコスト面からも、全ての施設で運用するのは困難なのが現状である。今回、乳癌のセンチネルリンパ節生検において、R-IHCはHE染色より高い検出率を示し、最終病理診断にほぼ一致する結果となり、乳癌におけるセンチネルリンパ節生検の術中迅速診断の精度向上に貢献するものと思われた。今後、予後の追跡も含め更なる検討が望まれる。

【演題 8】

脳腫瘍術中迅速病理診断における迅速免疫染色装置（ラピート）の有用性の検討

- 森谷 純^{1) 4)}、谷野美智枝¹⁾、竹浪智子¹⁾、漆戸万紗那¹⁾、石田雄介³⁾、王磊²⁾、木村太一^{2) 3)} 津田真寿美¹⁾、西原広史^{2) 3) 4)}、田中伸哉^{1) 2)}

北海道大学院医学研究科 病理学講座 腫瘍病理学分野¹⁾

北海道大学院医学研究科 探索病理学講座²⁾

北海道大学病院 臨床研究開発センター³⁾

北海道大学病院 がん遺伝子診断部⁴⁾

【背景】迅速免疫染色 Rapid immunohistochemistry(以下 R-IHC)とは、電界攪拌により抗原抗体反応を促進する事で、免疫染色を約 20 分で迅速に行うことを目的とした方法である。2014 年にはこの方法に特化した装置、Histo-Tec R-IHC（ラピート）が発売され、我々はこの装置の術中迅速診断における有用性を検討し報告してきた。R-IHC は様々な応用が可能だが、特に近年では悪性神経膠腫の治療薬としてギリアデル・ウエファーが新規に臨床適応されているが、術中診断で GradeⅢ以上の診断が確定したときのみ使用されるため、Ki-67 などの迅速免疫組織細胞化学染色を用いた正確な術中診断が求められるており、R-IHC の有用性が期待される。

【方法】2015 年 1 月から 2016 年 6 月までに術中迅速病理診断された脳腫瘍のうち、Ki-67、GFAP、CD20 など迅速免疫染色が可能であった 57 例を用いて永久標本との比較検討をした。

【考察】脳腫瘍検体を用いた R-IHC 法による免疫組織細胞化学染色の有用性を評価し報告する。

MEMO

MEMO

医療器械・理化学器械

チバ器械株式会社

<http://www.chiba-md.co.jp>

営業品目

産婦人科器械

病理検査器械

耳鼻咽喉科器械

〒980-0011 仙台市青葉区上杉一丁目11-20

TEL(022)221-7124(代表) / FAX(022)221-7159

未来を創る購買システム

POLESTAR

<http://www.science-tour.com>



ピペット・チップ・フィルター等



Countess II 自動セルカウンター
結果まで約10秒、細胞カウントが楽しくなる

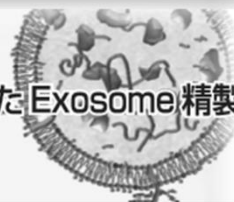
仙台から新しい未来を CREATE THE FUTURE

Wako

Exosome Isolation Kit PS

抗体ではない新規アフィニティー分子を採用したExosome精製キット

MagCapture™



仙台和光純薬

<http://www.sendaiwako.com>

試薬・受託合成・臨床検査薬
分析用理化学機器・消耗品・器材他

仙台市若林区卸町東二丁目2-32
TEL : 022 (239) 2700 FAX : 022 (239) 2705

For
the Future



For
the QOL



For
the Welfare



一人ひとりの未来・生命・健康のために

生命・環境に関わる最先端技術を支える「生命科学」

医療の現場を幅広く支える「医療」

高齢化社会を迎え今後ますます注目される「福祉」

シバタインテックは、3つの分野の連携を図りながら

一人ひとりの生命と健康を総合的にサポートすることで

より豊かな未来の実現に貢献いたします。



ライフテクノロジーを追求する

株式会社 シバタインテック



■ 本 社 〒984-0015 仙台市若林区卸町二丁目11番地3 TEL 022-236-2311 (代表)

■ 山形支店 ■ 荘内営業所 ■ 鶴岡営業所 ■ 郡山営業所 ■ メンテナンスセンター ■ ロジスティックセンター

<http://www.shibataintech.co.jp>



See the evolution



Ni-E

- ニコン独自の階層構造による、柔軟なシステム拡張性。
- 3Dエルゴデザインにより、機能性と美しさを両立。
- 操作部を前面に集中配置し、観察姿勢のままでの操作が可能。
- 多光子励起観察を想定した、長波長域での透過率の向上。
- ナノクリスタルコートを採用したCFIプランアポクロマートλ対物レンズとの組み合わせで、明るく高解像度な観察像を提供。

研究用顕微鏡

ECLIPSE **Ni** Series

生物学・医学の未来に新たな可能性を拓ける、究極の進化!

Evolution

みなさまの“あったらいいな”に応えた、やさしい進化!

- 視野周辺まで均一で明るく、環境にやさしい高輝度LED照明(Eco-illumination)。位相差、簡易偏光、鋭敏色偏光観察にも十分な明るさを確保。(Ci-E/Ci-L)
- 使用者に合わせた自然な観察姿勢を実現し、長時間の顕微鏡観察も快適。
- 顕微鏡をのぞいたまま撮影可能なキャプチャスイッチ(ニコン顕微鏡用デジタルカメラ使用時)。
- 各部の電動化によって操作性を向上させた、LED光源の電動モデルCi-E。



Ci-L

Feel the evolution

検査用顕微鏡

ECLIPSE **Ci** Series

販売元

株式会社 ニコン / 株式会社 ニコン インステック

カタログ・パンフレット等のご請求は (株)ニコンインステック バイオサイエンス営業本部へ
108-6290 東京都港区港南2-15-3(品川インターシティC棟)電話(03)6433-3982

■フリーダイヤル 0120-586-617

■ホームページ www.nikon-instruments.jp

販売代理店

株式会社 アオバサイエンス

仙台・郡山・盛岡・秋田・山形・いわき・首都圏

982-0032 宮城県仙台市太白区富沢1-5-30

電話 (022) 243-1988 www.aoba-science.co.jp



純正化学株式会社

東京都中央区日本橋本町4-4-16

営業本部	北海道営業所 (011) 874-0151
営業一部 (048) 988-3611	筑波営業所 (0296) 43-7711
営業二部 (048) 988-6161	千葉営業所 (0438) 62-1151
貿易部 (048) 988-8714	横浜営業所 (046) 264-6971
東北支店 (022) 283-8245	大阪営業所 (06) 6940-3091
(022) 232-6215	富山営業所 (076) 433-3100

広告掲載企業一覧

中外製薬株式会社

ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社

チバ器械株式会社

仙台和光純薬株式会社

株式会社南部医理科 仙台支店

株式会社シバタインテック

ニコン株式会社

純正化学株式会社

協賛企業

東北化学薬品株式会社 仙台支店

企業展示

サクラファインテックジャパン株式会社



Ventana BenchMark ULTRA

ベンタナ ベンチマークULTRA 免疫染色 & *in situ* Hybridization—全自動システム—

ベンチマーク・シリーズの最高峰

優れたベンタナ・テクノロジーをそのままに、
免疫染色と*in situ* Hybridizationの
リアルタイムな染色を実現



一般医療機器/特定保守管理医療機器
医療機器製造販売業出資号：13B1X00201000050



ベンタナ ベンチマークULTRAによる新提案

True Continuous Processing

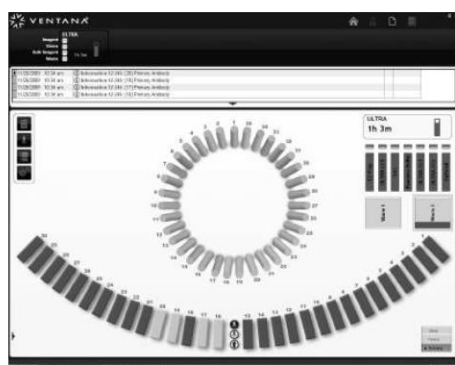
独立したスライドドローワーにより、
スライドを個別に染色管理します

- ・ 利用可能なスライドドローワーへの
新規スライドの染色オーダー
- ・ 染色終了したスライドからの取り外し
- ・ 新規オーダーされた染色に必要な試薬の追加
- ・ 不足しているバッファの補充
- ・ 許容量を越えた廃液タンクの自動切換え

Random Access

異なるプロトコルの同時処理が可能です。

- ・ 一次抗体の手分注と自動分注設定
- ・ 前処理や発色試薬の異なるIHC/ISH



ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社 〒105-0014 東京都港区芝2-6-1

カスタマーサポートセンター ☎ 0120-868-555 <http://www.rosche-td.jp/>

「Ventana」および「ベンタナ」は、ロシュ社の登録商標です。



迅速免疫染色研究会

事務局担当

〒010-8543 秋田県秋田市本道 1-1-1

秋田大学大学院医学系研究科胸部外科学

今野隼人 (konno-h@gipc.akita-u.ac.jp)