

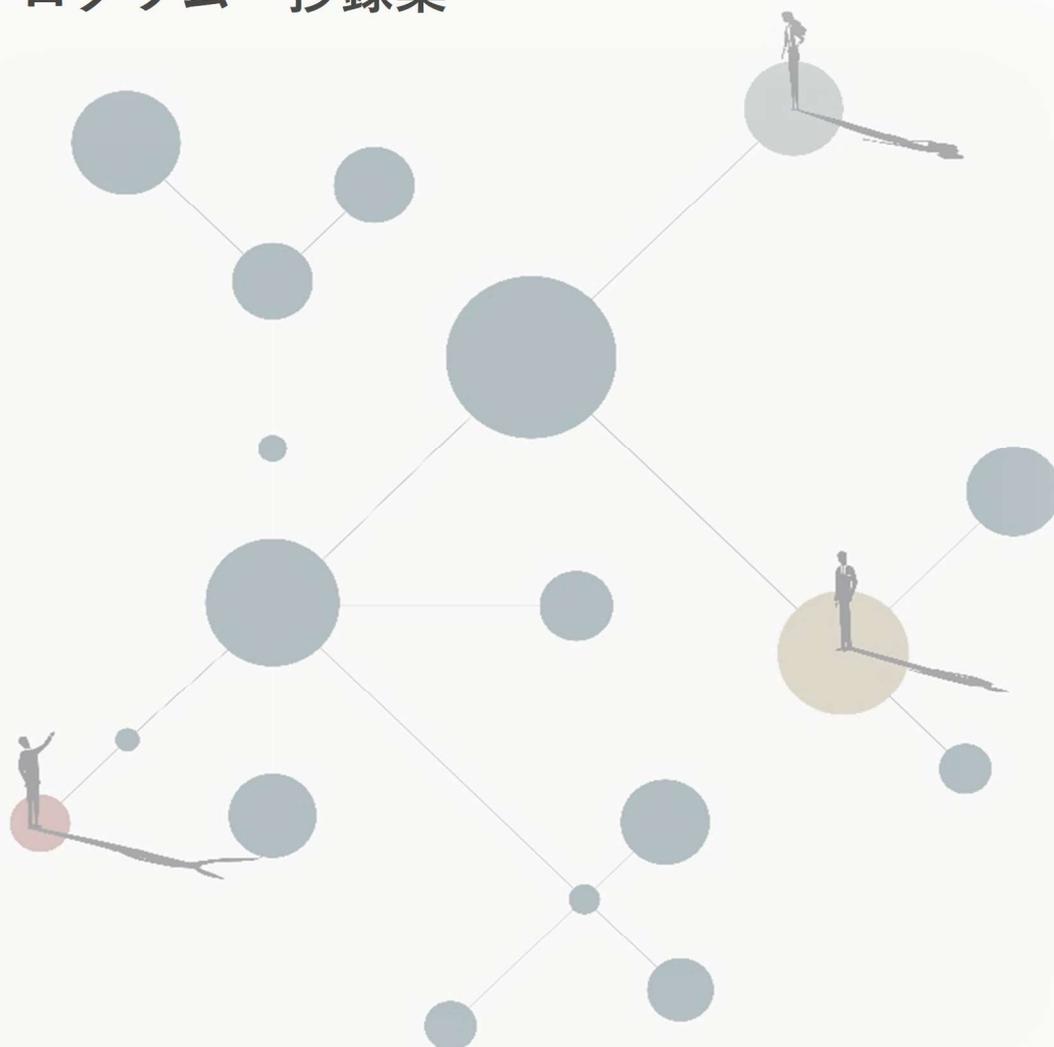
第14回

迅速免疫染色研究会

迅速化が導く次世代病理

Shift into high gear with new IHC technique !

プログラム・抄録集



日 時 : 2024年9月7日(土) 14時 - 18時05分

会 場 : 旭川医科大学 看護学科棟1階 大講義室

代表世話人 : 谷野 美智枝 (旭川医科大学病院 病理部・病理診断科)

遠軽厚生病院

遠紋地区の地域センター病院として地域住民の生命と安心を守ります



許可病床数	160 床（一般病床 158 床、感染症病床 2 床）
職員数	医師 32 名、看護職員 188 名（うち男性 14 名）、 医療技術職 40 名、事務職 95 名
一日平均患者数	外来 539 人 / 入院 151 人
手術件数	1,194 件
施設基準	急性期一般入院料 3、小児入院医療管理料 4、 地域包括ケア入院医療管理料 1
診療科目	内科、循環器科、小児科、外科、脳神経外科、整形外科、産婦人科、 皮膚科、泌尿器科、耳鼻咽喉科、眼科、麻酔科、総合診療科、心臓血管外科
主な指定	救急告示病院、基幹型臨床研修病院、へき地医療拠点病院、 地域センター病院、病院群輪番制病院、災害拠点病院、 北海道がん診療連携指定病院、北海道 DMAT 指定医療機関、 北海道小児地域医療センター
主な認定	地域周産期母子医療センター

お問い合わせ

TEL. **0158-42-4101**

〒099-0404

紋別郡遠軽町大通北3丁目1番5号



ご挨拶

第14回迅速免疫染色研究会を2024年9月7日（土）に旭川医科大学にて開催いたします。今回は“迅速化が導く次世代病理～Shift into high gear with new IHC technique!”というテーマを掲げました。2020年1月以来、COVID-19の感染拡大の影響を受けており延期や簡易開催を余儀なくされてしまいましたが、このたび4年ぶりに直接議論や情報交換ができるオンサイト開催を旭川で行えることになり、大変嬉しく思っています。

その間に素晴らしいニュースが飛び込んできました。2022年4月15日に待望の自動染色装置「ヒスト・テック®ラピート®Auto」が発売開始となったということです。秋田大学を中心とする本研究会が、産学官連携で開発を進めてきた電界攪拌技術を搭載した迅速免疫組織化学染色機の自動化により、検査技師の負担を軽減した“簡便”かつ“HEによる形態診断”と“免疫組織化学による性質診断”を組み合わせた質の高い診断を提供することが可能になったのです。我々の夢が実現し、今後はますます患者様のための医療にさらに貢献していくことと思います。

今回のテーマには、“次世代病理”としてデジタルパソロジー、AI（人工知能）、分子診断との融合を加速度的に進めていきたいという思いを込めました。近年、医療の現場においてデジタルパソロジーの導入により、組織標本のデジタル化が進み、リモート診断や病理医間の情報共有が一層容易になっています。さらにAIの活用により、病理診断の分野でも新たな可能性が広がっています。これらの技術革新と迅速免疫染色の統合により、我々はより効率的かつ正確な診断を提供できるようになり、患者様への迅速な治療が可能となることでしょう。

本研究会では、こうした最新技術を駆使した迅速免疫染色の最前線についても議論し、知識を共有する場としての役割を果たしてまいりたいと考えております。どうぞ、本日の会議を通じて、皆様の知見を深め、今後の診断技術の向上に繋がる有意義な時間となりますことを願っております。

第14回迅速免疫染色研究会
代表世話人 谷野 美智枝
旭川医科大学病院病理部

開催要領・アクセス

日 時 : 2024年9月7日(土) 14時 - 18時05分
会 場 : 旭川医科大学 看護学科棟1階 大講義室
代表世話人 : 谷野 美智枝 (旭川医科大学病院 病理部・病理診断科)
事 務 局 : 湯澤明夏・上小倉佑機・秋山直子
旭川医科大学病院 病理部・病理診断科 0166-69-3393
asahikawa.med.patho@gmail.com
H P : <https://www.rihc.jp/>



ア ク セ ス :



旭川空港からのアクセス

バス(旭川電気軌道、ふらのバス) 旭川市内行き
旭川医科大学下車 約20分
タクシー 所要時間約20分



旭川駅からのアクセス

バス(旭川電気軌道)
・系統71番(医大病院前行)
旭川医科大学下車 約35分
・系統80・81・84番
緑が丘3条4丁目下車 約25分
タクシー 所要時間約15分



お車でのアクセス

札幌駅～ 道央道経由約146km
稚内駅～ 道央道経由約249km
函館駅～ 道央道経由約444km
新千歳空港～ 道央道経由約183km
帯広駅～ 道東道経由約173km
釧路駅～ 道東道経由約298km



プログラム概要 9月7日(土)

受付 13:30～ 旭川医科大学看護学科棟1階 大講義室

機器展示 13:30～17:30 旭川医科大学看護学科棟1階 大講義室

開会挨拶 14:00～14:05

谷野美智枝 旭川医科大学病院 病理部・病理診断科

特別講演 14:05～14:35

座長 田中仲裁
北海道大学大学院医学研究院・医学院 腫瘍病理学教室
北海道大学病院 病理部／病理診断科

迅速免疫染色研究で得たもの
南谷佳弘 (秋田大学学長)

一般演題(1) 14:35～15:20

座長 森谷純 札幌医科大学附属病院 病理部・病理診断科
遠藤希之 仙台厚生病院 病理診断・臨床検査科

- 14:35 電界攪拌染色装置を応用した悪性胸膜中皮腫における FISH 及び IHC 迅速診断法の開発
岩井英頌 (秋田大学大学院医学系研究科医学専攻 腫瘍制御医学系 胸部外科学講座)
- 14:50 凍結組織標本に免疫染色を行う場合の固定液と熱賦活処理の検討
池田聡 (千葉科学大学 危機管理学部 保健医療学科)
- 15:05 電界攪拌技術を応用した全自動迅速免疫染色装置による乳癌受容体免疫染色の検討
工藤千晶 (秋田大学大学院医学系研究科 胸部外科講座／秋田厚生医療センター 乳腺外科)

教育講演(1) 15:20～16:00

座長 南條博 秋田大学医学部附属病院 病理診断科・病理部

悪性神経膠腫の浸潤部を検出する臨床的意義と技術的挑戦
木下学 (旭川医科大学 脳神経外科学講座 教授)

Coffee Break 16:00~16:20

教育講演 (2) 16:20~17:00

座長 伊藤智雄 神戸大学医学部附属病院 病理部・病理診断科

個別化医療の推進に向けた病理画像 AI の応用
小西 哲平 (株式会社 biomy)

一般演題 (2) 17:00~18:00

座長 山田範幸 岩手医科大学附属病院 病理診断科
成田かすみ 秋田大学医学部附属病院 病理診断科・病理部

- 17:00 当院における迅速病理診断の現状と今後の展望
林真奈実 (旭川医科大学病院 病理部・病理診断科)
- 17:15 脳腫瘍における迅速免疫染色(R-IHC)および捺印細胞診(R-ICC)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)
- 17:30 IDH1R132H 過剰発現グリオーマ細胞株を用いた迅速免疫染色の検討
宮川京大 (旭川医科大学病院 病理部・病理診断科)
- 17:45 生命科学分野における電界攪拌技術を用いた in situ hybridization 法の迅速化の検討
内田克哉 (東北大学大学院 情報科学研究科 情報生物学分野)

閉会挨拶 18:00~18:05

田中伸哉 北海道大学医学系研究会腫瘍分子学分野・北海道大学 病理部／病理診断科

<MEMO>

特別講演

迅速免疫染色研究で得たもの

秋田大学学長 南谷 佳弘

私たちが開発・研究している迅速免疫染色法は、秋田県産業技術センターの赤上陽一氏が発明した「電界攪拌技術」を応用して、免疫組織染色のスピードを向上させたものである。この技術は、微量液滴を非接触で効率的に攪拌する方法で、北東北ナノメディカルクラスター研究会でその効果が発表された。その後、発表者がこの技術を免疫組織染色に応用することを提案し、本研究がスタートした。2012年1月に公開された特許「免疫組織染色方法および免疫組織染色装置」を基に、秋田エプソン株式会社が技術を装置化し、サクラファインテック・ジャパンが初代の「ヒスト・テック® R-IHC®」を2014年に発売した。さらに、2022年には後継機「ヒスト・テック® ラピート® Auto」が登場した。本研究および機器開発は、東北経産局、経済産業省、AMEDからの支援を受けて行われ、その成果は多くの論文や学会で発表され、関連特許も数多く取得された。ただし、迅速免疫組織染色の技術は、装置の開発だけでは実現しなかった。施設ごとに異なる免疫組織染色のプロトコルを最適化するためには、検査技師や研究者の貢献が不可欠だった。14回目を迎える迅速免疫染色研究会には、今まで多くの施設が参加し、本技術の開発と応用方法を洗練させてきた。迅速免疫組織染色法はまだ発展途上だが、これからも仲間と共に装置の改良と応用を進めていきたいと考えている。そして、この研究で得た最大の成果は、共に研究開発を進めてきた仲間との強い絆だと感じている。

一般演題（1） 演題 1

電界攪拌染色装置を応用した悪性胸膜中皮腫における FISH 及び IHC 迅速診断法の開発

○岩井 英頌¹⁾、今井 一博¹⁾、南條 博²⁾、南谷 佳弘¹⁾

1) 秋田大学大学院医学系研究科医学専攻 腫瘍制御医学系 胸部外科学講座

2) 秋田大学医学部附属病院 病理診断科・病理部

悪性胸膜中皮腫（Malignant Pleural Mesothelioma: MPM）は進行が早く予後不良な疾患として知られており、早期治療介入のために迅速かつ確実な診断が重要である。FISH 法により検出される p16 ホモ接合性欠失は、MPM 診断において有用な項目の 1 つであるが、通常 16～20 時間程度の時間がかかるため術中迅速診断は困難である。一方で、電界攪拌技術を用いることで hybridization 時間を短縮することが可能であったことが示されており、本研究ではこの電界攪拌技術を用いて p16/CDKN2A FISH に応用し、悪性胸膜中皮腫における迅速診断法の開発を目指す。また、IHC も欠かせない項目であり、本研究では電界攪拌技術を用いて BAP1, MTAP, D2-40, WT-1, CK5/6, TTF-1 における迅速診断法を確立していき、最終的にはこれらを総合的に評価して従来法と遜色のない診断率が得られるよう目指していく。現時点での本研究の進捗と課題について報告する。

一般演題（1） 演題 2

凍結組織標本に免疫染色を行う場合の固定液と熱賦活処理の検討

○池田 聡

千葉科学大学 危機管理学部 保健医療学科

【目的】

病理診断においては現在、免疫染色は必要不可欠な技術であり、形態学的に鑑別不可能で免疫染色を使用しなければならない疾患は多数存在する。凍結組織標本でも免疫染色は可能であるが、保険点数も認められておらず高頻度に行われてはいない。今回凍結組織標本に免疫染色を行う場合の固定液と熱賦活処理について検討を行った。なお、今回の検討には迅速免疫染色装置は使用しなかった。

【対象と方法】

検討材料にはブタ舌組織の凍結組織切片を用いた。検討抗原としてはサイトケラチン、ビメンチン、p63 を用い、それぞれの検体に対し熱賦活処理標本および未賦活標本をそれぞれ作成し染色態度を観察した。検討した固定液は 95%エタノール、メタノール、LBC 固定液（TACAS RUBY、）10%緩衝ホルマリン、ホルマリン/酢酸/エタノール混合液（以下混合液）、アセトン、エーテルエタノール、70%イソプロパノールの 8 種類で行った。

【結果および考察】

染色性、非特異反応、切片の剥がれなどを総合し各染色を 0~7 まで 8 段階にスコアリングして評価を行った。その結果、賦活処理なしでは 10%緩衝ホルマリンや混合液で成績が良かった。一方、賦活処理を行う場合 95%エタノール、混合液で高スコアであった。また熱賦活の条件は pH9 賦活液で 98°C5 分が適当であったが、ビメンチンなど処理によってかえって染色性が低下するものも見られた。固定液の種類により染色性や賦活処理に対する効果はそれぞれ異っており、総合的には混合液の汎用性が高いと思われる。

一般演題（1） 演題3

電界攪拌技術を応用した全自動迅速免疫染色装置による乳癌受容体免疫染色の検討

○工藤 千晶¹⁾²⁾、寺田 かおり¹⁾、南條 博³⁾、廣嶋 優子³⁾、若松 由貴¹⁾、今井 一博¹⁾、野村 恭子⁴⁾、南谷 佳弘¹⁾

1) 秋田大学大学院医学系研究科 胸部外科学講座 2) 秋田厚生医療センター 乳腺外科
3) 秋田大学医学部附属病院 病理部 4) 秋田大学大学院医学系研究科 衛生学・公衆衛生学講座

【目的】

乳癌は本邦で女性の罹患数第一位であり、乳癌組織におけるエストロゲン受容体(ER)、プロゲステロン受容体(PgR)、HER2、Ki-67 などの免疫染色情報が遺伝子プロファイルの代替として薬物療法の方針決定に用いられる。免疫染色の実施件数は近年急増しているのに加え、迅速で正確な診断が求められている。このような背景のもと、電界攪拌技術を用いた迅速免疫染色装置が開発され、その後全自動化迅速免疫染色装置「ヒスト・テック® ラピート® Auto」が上市された。今回、ヒスト・テック® ラピート® Auto において乳癌のホルマリン固定パラフィン包埋 (formalin fixed paraffin embedded : FFPE) 検体でのエストロゲン受容体免疫染色のプロトコルを検討し、診断精度を評価した。

【対象と方法】

対象は 2015 年 1 月から 2020 年 6 月に当院で手術を施行された乳癌症例の FFPE 検体 188 例。連続切片を作成し、各症例に用手法、既存の全自動化迅速免疫染色装置(Ventana® benchmark)による染色、事前に検討したヒスト・テック® ラピート® Auto における ER 免疫染色プロトコルに基づいた免疫染色の 3 種類を行った。一次抗体には Ventana® ultraView コンファーム ER (SP1)、二次抗体には Ventana® ultraViewDAB ユニバーサルキット マルチマーHRPを用いた。病理医 2 名により Allred score に基づきスコアリングされ、Total score を 0-2 点(陰性)、3-6 点(弱陽性)、7-8 点(強陽性)に分け、ヒスト・テック® ラピート® Auto と用手法、ヒスト・テック® ラピート® Auto と既存の全自動化迅速免疫染色装置(Ventana® benchmark)での染色結果を比較し、AC₁ 統計量を用いて統計学的に検討を行った。

【結果】

ヒスト・テック® ラピート® Auto と用手法の比較では AC₁ 統計量は 0.9490(0.9139-0.9841)、ヒスト・テック® ラピート® Auto と Ventana® benchmark の比較では AC₁ 統計量は 0.9095(0.8620-0.9570)であり、いずれも高い一致度であった。

【考察】

従来の「ヒスト・テック® R-IHC®」は主に凍結切片での術中迅速診断に使用されていたが、FFPE 組織検体でも良好な結果を得ることができ、最終病理診断の迅速化に寄与する可能性が示唆された。電界攪拌技術の応用による迅速免疫染色器機は良好な染色性と再現性を示してきたが、ヒスト・テック® ラピート® Auto においても同様の結果であった。乳癌診療において重要なバイオマーカーとなる PgR、HER2、Ki-67 など、他の免疫染色への応用や、他癌腫での免疫染色の迅速化の検討なども今後の発展的な課題である。

教育講演（1）

悪性神経膠腫の浸潤部を検出する臨床的意義と技術的挑戦

○木下 学

旭川医科大学 脳神経外科学講座

膠芽腫は集学的治療を行っても、2年程度の生存期間しか見込めない原発性悪性脳腫瘍である。この腫瘍は強い浸潤性破壊性増殖能と著しい多形性を特徴とし、腫瘍と脳組織の境界が不明瞭である。膠芽腫に対する標準治療は、腫瘍に対する可及的摘出に引き続く化学放射線療法である。一般的に、腫瘍に対する可及的摘出は、MRIの造影T1強調画像で造影増強効果を示す造影病変の切除と定義される。しかしながら、膠芽腫の顕著な浸潤性破壊性増殖能を考えると、腫瘍細胞密度が高い病変は造影病変より大きいことが容易に想定される。近年、膠芽腫に対する最も理想的な外科的標準術式と手術達成度の評価方法を探索する研究が注目されている。そこでは、可及的切除や手術達成度を、造影病変を基準にして定めるのではなく、造影病変周辺に広がる浮腫性変化を示す非造影病変も含めて定める考え方が提案されている。しかしながら、病理組織診断でもそうであるように、手術計画の基盤となる放射線画像で精確に膠芽腫の非造影病変を可視化することは容易ではない。

本発表では、膠芽腫を治療する際の標的病変の考え方の変遷と、今なお解決されていない問題点についてまとめる。

教育講演（2）

個別化医療の推進に向けた病理画像 AI の応用

○小西 哲平
株式会社 biomy

【目的】

本研究は、個別化医療の実現を目指し、病理画像の AI 解析技術を利用してがん微小環境（TME）を詳細に解析することを目的とする。特に、患者個々の TME に存在する免疫細胞の種類及びその空間的配置に焦点を当て、これらが治療応答及び予後にどのように影響を及ぼすかを明らかにする。

【方法】

AI 技術を用いて、H&E 染色された病理スライドから複数の細胞タイプを高精度に検出し、数十万に及ぶ細胞の空間情報を定量化する。特に TILs（腫瘍組織浸潤リンパ球）の定量化と予後との関係性を解析する手法を構築し、実際の臨床サンプルに対して AI アルゴリズムを適用し、その有効性を評価した。

【結果】

特定の免疫細胞の分布パターンが予後と関連していることが示された。また、可視化アルゴリズムにより、TILs が活発な領域を示すことが可能になり、視覚的にも免疫の活性状態を把握できるようになった。

【結論】

本研究は、がん治療の個別化を推進するための重要なステップであり、AI 技術を活用した病理画像解析が将来的にがん治療のパーソナライズ化に貢献することが期待される。

一般演題（2） 演題1

当院における迅速病理診断の現状と今後の展望

○林 真奈実、上小倉 佑機、坂田 玲、青木 直子、劉 佳遥、水上 奨一朗、里村 真帆、
小川 莉乃、宮川 京大、松田 峻輔、秋山 直子、湯澤 明夏、谷野 美智枝
旭川医科大学病院 病理部病理診断科

【目的】

術中迅速診断は適切な治療選択において必須である。一方で、従来の HE 染色標本と細胞診標本のみでは診断に難渋する症例が時折存在する。自験例を再検討し、迅速免疫染色により正診率の向上が期待される症例について考察する。

【結果】

当院の 2023 年度における術中迅速診断 419 例を再検討した。解凍標本で診断が変更になった症例は 4 例（約 1%）あり、これらの症例を含めて約 10%の症例で診断に難渋した。内訳は主に脳腫瘍（神経膠腫とリンパ腫の鑑別、脱髄性疾患等）、卵巣腫瘍（原発性腫瘍と転移性腫瘍の鑑別）、消化管断端（低分化腺癌の断端）、ヒルシュスプルング病検体（神経節細胞の有無）、肺腫瘍（腺腫と腺癌の鑑別）であった。

【考察】

術中迅速診断で診断に難渋する症例の中には、免疫染色の併用によって診断し得たと考えられるものが約 24%含まれていた。これらは迅速免疫染色の施行によって、より迅速かつ正確な診断に至るものと考えられた。鑑別に有用な抗体は、概ね迅速免疫染色が可能との報告があるものの、未報告の抗体が一部含まれるため、今後検討の余地があると考えられる。

【結語】

術中迅速診断では鑑別に難渋する症例が存在するが、迅速免疫染色はこうした症例の診断の一助となり得ると考えられ、幅広い施設での運用が望まれる。

一般演題（2） 演題 2

脳腫瘍における迅速免疫染色(R-IHC)および捺印細胞診(R-ICC)の現状と課題

○廣嶋 優子、大友 茉衣、三浦 文仁、三浦 桃子、鈴木 世志子、成田 かすみ、南條 博
秋田大学医学部附属病院 病理診断科・病理部

進行度や悪性度に応じた適切な術式を選択するため、術中迅速病理診断の意義は増している。当院では R-IHC 装置を用いた術中脳腫瘍診断を 2011 年より施行しているが、2016 年の脳腫瘍 WHO 分類の改訂を受け、術中においてもより詳細な分子病理的検索を行うべく、複数の抗体を用いた R-IHC に取り組んできた。2016 年から 2022 年までの脳腫瘍の術中迅速診断で、膠腫と診断した 145 例で行った検討で、凍結切片 HE 染色による診断と、Olig2, ATRX, p53, IDH-1, Ki-67 抗体の R-IHC を加えた診断および染色結果を、最終診断および永久標本の結果と比較検討し、Olig2 は感度 88%, 特異度 100%, ATRX は感度 82%, 特異度 71%, p53 は感度 55%, 特異度 95%, IDH-1 は感度 44%, 特異度 88%という結果であった。IDH-1 陽性腫瘍を術中に判断することは難しく、依然として課題ではあるが、他の抗体の染色結果と統合し、ある程度正確な術中診断を行えるようになってきている。現在当科では、自動免疫染色装置の活用を視野に入れ、凍結による影響の回避、IHC 不向きな抗体の所見を補完するため、組織診に併行して術中迅速捺印細胞化学染色 (Auto R-ICC) の導入をめざしている。これまでに ATRX および Olig2, p53, CD20, Ki-67 の Auto R-ICC を試行してきたが、最大 5 症例程度ではあるが、いずれも概ね良好な染色結果が得られている。ATRX R-ICC は、当初全く染まらない事例を経験したため、条件の変更を重ね、現時点では Ventana® optiview を使用した 3step での染色性が良いと考えている。また、自動機の電極の形状（現行の凸電極、変更した平板電極）によっても若干の染色性の違いが見られたが、この理由に関しては、現時点では不明である。Olig2 に関しては、抗原の十分な賦活化を行うことにより、2step 法でも十分な染色性が得られた。また、p53, CD20, Ki-67 などに関しては、これまでの手動機での R-ICC と同様、良好な染色性が得られている。自動機による R-ICC の問題点としては、手動機に比較して染色に要する時間が現状長いこと、捺印細胞診の特性上、腫瘍量や細胞の重なりなどの点で、検体間にばらつきが見られることが挙げられる。R-ICC 単独での術中応用は未だ難しいのが現状であるが、今後も症例を蓄積し、安定した染色を目指したいと考えている。

一般演題（2） 演題3

IDH1R132H 過剰発現グリオーマ細胞株を用いた迅速免疫染色の検討

○宮川 京大¹⁾、秋山 直子¹⁾、玉村 伸恵²⁾、岡田 陽子¹⁾、里村 真帆¹⁾、小川 莉乃¹⁾、松田 峻輔¹⁾、劉 佳遥¹⁾、水上 奨一郎¹⁾、坂田 玲¹⁾、林 真奈実¹⁾、上小倉 佑機¹⁾、青木 直子¹⁾、湯澤 明夏¹⁾、水上 裕輔²⁾、谷野 美智枝¹⁾

1)旭川医科大学病院 病理部/病理診断科

2)旭川医科大学 内科学講座 消化器内科学分野

【目的】

術中迅速診断において、グリア細胞の増生が見られた場合、非腫瘍性のグリア細胞の増生である gliosis か low-grade glioma か判断に苦慮する場合がある。Low-grade glioma では IDH1 R132H の免疫染色が高頻度に陽性となり、gliosis では陰性になることから両者の鑑別に有用である。しかし、凍結切片を用いた迅速免疫染色において IDH1 R132H の染色が困難であることが報告されている。そこで、今回我々は IDH1 R132H 過剰発現グリオーマ細胞株を用いて迅速免疫染色の条件を検討した。

【方法】

術中迅速診断を模倣するために、IDH1 R132H を過剰発現させた膠芽腫細胞株 KMG4 と IDH1 野生型を過剰発現させた膠芽腫細胞株 KMG4 を用いて、凍結切片と細胞診標本作製した。

固定：細胞診標本は、アルコール固定(2分)とアルコール固定(2分)+10%中性緩衝ホルマリン固定(5分)を行った。賦活なしと、pH9の抗原賦活液で3分熱賦活を検討した。ヒスト・テック® R-IHC® (サクラファインテックジャパン株式会社)、IDH1 R132H 一次抗体試薬(Dianova 社)を用いて迅速免疫染色を実施した。また、比較として自動免疫染色装置 BOND-III(Leica)を用いて同様の検討を行った

【結果】

凍結切片ではいずれの賦活条件においても IDH1 R132H の迅速免疫染色は陰性となったが、細胞診標本では、いずれの固定条件においても弱陽性細胞が散見された。BOND-IIIによる細胞診標本の染色結果と比べ陽性強度・陽性率ともに低かった。

【考察】

凍結切片で IDH1 R132H が偽陰性化したことから、凍結操作による抗原の不活性化の影響が考えられる。固定条件に関わらず、細胞診標本では弱陽性、BOND-IIIでは強発現を示したことから、迅速免疫染色における賦活、ないし一次/二次抗体反応の条件の違いが IDH1 R132H の染色結果に影響していると考えられ、さらなる検討が必要である。IDH1 R132H の迅速免疫染色では、凍結標本よりも細胞診標本の利用が有用である可能性が示唆され、染色法の確立には抗原賦活法および一次/二次抗体の反応条件のさらなる検討・工夫が必要である。

一般演題（2） 演題 4

生命科学分野における電界攪拌技術を用いた in situ hybridization 法の迅速化の検討

○内田 克哉、大林 武

東北大学 大学院 情報科学研究科 情報生物学分野

【目的】

組織内における mRNA 発現を可視化する技術は我々観察者に重要な情報をもたらすが、一方で操作性の煩雑さや長時間にわたる反応時間が問題となる。そこで我々はまず、電界攪拌技術を用いて in situ hybridization (ISH) 法の迅速化、とくにハイブリ反応時間の短縮について検討した。

【方法】

マウス脳組織を用いて、通常の行程同様に薄切切片を作成した。ハイブリ液との反応時間を段階的に減じて、最短時間を見つけるとともに、蒸散防止に使用するオイルとの液量、さらにはシーリング用の撥水性シールサイズ（直径 26 mm 内径 20 mm 厚み 0.23 mm）の検討を行い、RIHC 試作機を用いて ISH を実施した。

【結果】

撥水性シールを用いた際のマウス前額断脳切片 1 枚当たりハイブリ液量は 60-70 μL 、オイルが約 200 μL が至適最小量であることが明らかとなった。この液量は電解攪拌を利用した免疫染色時に比べて 100 μL ほど増量されており、全液量 270 μL で電界攪拌を実施するとその行程においてシーリングよりオーバーフローを生じた。そのため、厚みを 0.46 mm に変更した。また液量の増加に伴い、機器設定値は電圧 4 kV, 周波数 5 Hz, 間隔 5.8 mm とした。以上の検討により、通常の ISH 法と遜色の無い染色像を得たハイブリ反応時間は最短で 2 時間であった。

【考察】

通常の ISH のハイブリ反応時間は、一般に 65°C オーバーナイトであるが、RIHC 試作機を用いることで 2 時間にまで短縮することが可能になった。我々が採用したその後の可視化行程は、stringency wash に続き DIG-AP 抗体反応 NBT/BCIP による従来の発色法である。RIHC を用いて抗体反応の迅速化に努めたとしても、NBT/BCIP による酵素反応 2 時間以上を要するため、可視化までに 5 時間程度を必要とする。さらなる迅速化のためには、DIG 抗体標識物を AP より HRP 標識ポリマーに置き換えることで解決できると思われる。また、ハイブリ溶液の組成はごく一般的な化学・生物学的物質ではあるが、プローブの浸透をより亢進させ、さらなる時短効果を得るために、SDS 等の界面活性剤の添加も有用であると考えられる。

【結語】

電界攪拌技術を利用することで、ISH 法におけるハイブリ反応時間をオーバーナイトから 2 時間にまで短縮できた。生命科学分野においては、本機器を利用することで十二分な時短効果をもたらすものと推察されるが、医療分野における迅速診断においては未だ多くの課題を残すところである。さらなる検討を重ねて、ISH にかかる全行程を数時間内に収めたいと考えている。

広告掲載企業一覧

医療法人社団 健幸会 高桑整形外科 永山クリニック
JA 北海道厚生連 遠軽厚生病院
社会医療法人 孝仁会 釧路孝仁会記念病院

企業展示

サクラファインテックジャパン株式会社

(五十音順 令和6年現在)

第14回迅速免疫染色研究会開催にあたり、皆さまの多大なるご協力並びにご厚情を賜りました。この場をお借りして厚く御礼申し上げます。

第14回迅速免疫染色研究会 代表世話人 谷野 美智枝



第 14 回迅速免疫染色研究会

プログラム・抄録集

発行

令和 6 年 9 月 2 日

編集

第 14 回迅速免疫染色研究会事務局

旭川医科大学病院 病理部・病理診断科



社会医療法人 孝仁会

理事長 齋藤 孝次



基幹型臨床研修病院

脳・脊髄疾患、心臓疾患の専門医への第一歩

釧路孝仁会記念病院

院長 稲垣 徹

ホームページ <http://www.kojinkai.or.jp>



ハイブリッド手術室



急性期・回復期・在宅期医療

釧路孝仁会記念病院	釧路市豊岡191-212	☎0154-39-1222	札幌孝仁会記念病院	札幌市西区宮の沢2条1-16-1	☎011-665-0020
釧路孝仁会 リハビリテーション病院	釧路市豊が浜大通3-9-13	☎0154-54-2500	札幌第一病院	札幌市西区二十四軒4条3-4-26	☎011-611-6201
釧路脳神経外科	釧路市芦野1-27-1	☎0154-37-5512	はまや循環器クリニック	札幌市豊平区月寒中央通7-6-20 JA 月寒中央ターミナルビル5F	☎011-857-2666
新しくろクリニック	釧路郡釧路町緑2-1-6	☎0154-37-6333	札幌西孝仁会クリニック	札幌市西区宮の沢1条1-1-30 宮の沢ターミナルビル2F	☎011-590-0322
中標津脳神経外科	標津郡中標津町西11条南3-4-1	☎0153-73-1500	留萌セントラルクリニック	留萌市栄町1-5-12	☎0164-43-9500
知床らうす 国庫健康保険診療所	胆振郡標岡町栄町100-83	☎0153-87-2116			



医療法人社団 健幸会

高桑整形外科 永山クリニック

院長 高桑 昌幸

(日本専門医機構整形外科専門医)

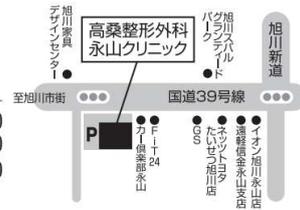
リウマチ相談・スポーツ相談・骨粗鬆症相談・乳児股関節エコー健診

- 整形外科
- (運動器)リハビリテーション科
- リウマチ科

診療受付時間

平日 / 9:00~12:30
14:00~18:00
水・土曜日 / 9:00~12:30
日曜・祝日 / 休診

※リハビリは昼休みも行います。



旭川市永山3条11丁目(国道39号線沿) TEL (0166) 48-5276 FAX (0166) 48-6277