

ジゴキシゲニン標識プローブによる EBER1 *in situ* hybridization 法の再検討

◎瀬良 百音¹⁾、大明 慧克¹⁾、土川 優香¹⁾、藤川 穂乃香¹⁾、藤井 智大¹⁾、清水 勇輝¹⁾
山口大学大学院医学系研究科基礎検査学講座¹⁾

【はじめに】Epstein-Barr (EB) ウイルスは胃癌の約 10%、特にリンパ球浸潤癌 (CLS) の 90%以上に陽性である。また、EB ウイルス関連胃癌は The Cancer Genome Atlas Research Network の網羅的な分子生物学的解析により、胃癌の 4 つのタイプの一つとされている。我々は手技が簡易な biotin 標識プローブを用い、EBV-encoded small RNA1 (EBER1) を標的とした *in situ* hybridization (ISH) 法で EB ウイルス関連胃癌の診断を行ってきた。しかし今回感度を重視し、ジゴキシゲニン (DIG) 標識プローブによる EBER1 ISH 法の再検討を行った。

【材料および方法】対象は 2017 年から 2018 年までの間に山口大学医学部附属病院で外科的切除を受けた胃癌 75 症例 76 病巣である。EB ウイルス関連胃癌の診断には、プロトコールを一部改良した、DIG 標識プローブによる EBER1 ISH 法を用いた。

【結果】改良した DIG 標識プローブによる EBER1 ISH 法により、陽性コントロールではほとんどすべての癌細胞の核が明瞭に染色された。また、EB ウイルス関連胃癌は新

規に 3 症例 3 病巣検出され、全体の 3.9%を占めた。EB ウイルス関連胃癌は若年性で男性有意であり、胃上部に好発していた。EB ウイルス関連胃癌のうち 2 例は分化型腺癌、1 例は CLS に分類されていた。一方で、CLS と診断されているものの、EB ウイルス陰性だった症例を 1 例認めた。

【考察】従来の DIG 標識プローブによる EBER1 ISH 法は biotin 標識プローブによる EBER1 ISH 法より手技が煩雑な点がデメリットであったが、再固定やプローブの浸透を良くしたり、傷害された組織を修復したりするステップを省くことで手技を簡略化した。その結果、高感度で簡易な DIG 標識プローブによる改良 EBER1 ISH 法を確立することができた。EB ウイルス関連胃癌の検索は CLS が認められて初めて行われるが、通常の組織型に分類される EB ウイルス関連胃癌も多く存在する。通常型の EB ウイルス関連胃癌を見逃さないために、胃癌全例を検索し、CLS 以外の臨床病理学的特徴を検討していく必要がある。

連絡先—0836-22-2058

アスベスト小体の検出における肺しぼり液法の検討

◎新田 麻衣¹⁾、松田 正浩¹⁾、生田 倖聖¹⁾、齋藤 真奈美¹⁾、齋藤 豊彦¹⁾
独立行政法人 国立病院機構 岩国医療センター¹⁾

【はじめに】

アスベスト小体とは、肺内に長期間滞留したアスベスト繊維の一部がフェリチンなどの鉄たんぱく質で覆われたものであり、悪性中皮腫及び肺癌の発生に関係があると考えられている。アスベスト小体の検出方法は様々であるが、有用な手法の1つとして肺しぼり液法が文献で紹介されており、今回我々は肺しぼり液法とこれまで当院で実施してきた手法（以下従来法）において、アスベストばく露歴がある3症例のアスベスト小体の検出数を比較検討したので報告する。

【対象と検査方法】

アスベストばく露歴がある症例1～3を対象とした。従来法では、手術材料のFFPEを厚さ3～4 μ mで薄切後、脱パラフィンのみ実施し鏡検を行った。肺しぼり液法では、切り出し後の肺を手で5～10m l しぼり、3000rpmで3分遠心後、上清を除去して沈査で引きガラス標本、LBC標本（BD シュアパスTM法）、セルブロック標本作製し、これらをすべて鉄染色して鏡検を行った。

【結果】

従来法のアスベスト小体の検出数は、症例1で8本、症例2で1本、症例3で0本であった。肺しぼり液法では、症例1は引きガラス標本0本、LBC標本16本、セルブロック標本8本、症例2は引きガラス標本0本、LBC標本3本、セルブロック標本1本、症例3は引きガラス標本0本、LBC標本1本、セルブロック標本1本であった。

【考察】

肺しぼり液法と従来法においてアスベスト小体の検出数を検討した。肺しぼり液法の引きガラス標本ではアスベスト小体が検出されなかったが、LBC標本とセルブロック標本では全ての症例で検出され、症例3では肺しぼり液法にのみ検出された。また、従来法よりもアスベスト小体の検出数が多く、アスベスト小体の同定に有用と考えられた。とくにLBC標本はアスベスト小体の検出数が最も多く、標本作製の所要時間も短いため、第一に選択すべき検出法であると考えられた。

連絡先 0827-35-5668（内線 4021）

自動包埋装置(PELORIS3)を活用した脱脂プロトコルの運用

◎松本 唯楓¹⁾、水間 俊一¹⁾、山本 彩佳¹⁾、竹光 千紘¹⁾、田川 未夢¹⁾、山本 千奈美¹⁾
 地方独立行政法人 山口県立病院機構 山口県立総合医療センター¹⁾

【はじめに】乳腺等の脂肪を多く含む手術検体は、標本作成過程で脱脂操作が不可欠である。脱脂操作が不十分な場合、パラフィン浸透が不良となり薄切時のアーチファクトにつながる。当院では、用手法によるアセトンでの脱脂(2～3日)と、自動包埋装置内によるエタノール・キシレン等量混合液(以下 エタキシ)による脱脂(180分)を組み合わせて脱脂操作を行っている。この度、HistoCore PELORIS3 プレミアムティッシュプロセッサ(ライカマイクロシステムズ株式会社 以下 PELORIS3)の導入を機に、脱脂時間の短縮が図れないか検討したので報告する。

【材料】10%中性緩衝ホルマリン固定された乳腺組織2例と脂肪腫と診断された軟部組織2例を用いた。

各組織を20×30×5(mm)と25×50×10(mm)に切り出した。

【方法】

脱脂プロトコル①(機器工程:15時間 57分)

アセトン脱脂なし+エタキシ 180分

脱脂プロトコル②(機器工程:15時間 57分)

アセトンによる脱脂 1日+エタキシ 180分

脱脂プロトコル③(機器工程:19時間 29分)

アセトン脱脂なし+エタキシ 480分

脱脂プロトコル④(機器工程:40時間 29分)

アセトン脱脂なし+エタキシ 1020分

上記条件における、薄切への影響を比較した。

【結果】

	乳腺5mm		乳腺10mm		脂肪腫5mm		脂肪腫10mm	
脱脂プロトコル①	×	×	×	×	×	×	×	×
脱脂プロトコル②	△	△	×	×	△	△	×	×
脱脂プロトコル③	○	○	△	△	○	○	△	△
脱脂プロトコル④	○	○	○	○	○	○	○	○

○:薄切良好
 △:薄切一部不良
 ×:薄切不良

【考察】平日はアセトンによる脱脂(1日)+脱脂プロトコル③、週末は脱脂プロトコル④を利用することで脱脂時間を短縮することができ、業務の効率化を図ることが期待できる。しかし、本検討では、試薬の劣化等の変動要因については検証出来ていない。当日は、実運用を通じて得られた知見や運用上の課題について報告する予定である。

連絡先:0835-22-4411(内線:509)