

医 1

RAS 遺伝子変異を示す大腸癌と粘液形質、p53, HER2 および ALK 遺伝子異常との関連性

◎加藤 寿一¹⁾

社会福祉法人 恩賜財団済生会滋賀県病院 病理診断科¹⁾

【はじめに】大腸癌における RAS や TP53 遺伝子変異は、日常診療において薬剤抵抗性や悪性度の指標として頻繁に検査されるが、粘液形質やトラスツマブなど主要な分子標的薬との関連に焦点を当てた研究は少なく、今回その検討を行った。【材料および方法】過去 2 年間に RAS 遺伝子(KRAS codon12, 13, 59, 61, 117, 146 および NRAS codon12, 13, 59, 61, 117, 146)変異検索を行った大腸癌手術検体 40 例を用いて MUC2, CD10, MUC5AC, MUC6, p53, HER2, EGFR, ALK 各免疫組織化学を施行し、それらの関連性を評価した。【結果】EGFR はすべての症例において部分的に陽性所見が得られた。RAS 変異を示す症例は 15/40 例で、大腸型 3 例、小腸型 11 例、混合型 1 例であった(小腸型 77%)。p53 過剰発現を示した症例は 9/15 例で見られた(60%)。HER2 の部分的な過剰発現を示すものが小腸型 1 例に見られた。RAS 変異を示さない症例は 25/40 例で、大腸型 2 例、小腸型 12 例、混合型 1 例、分類不能型 5 例であった(小腸型 48%)。p53 過剰発現を示した症例は 13/25 例で見られた(52%)。HER2 過剰発現を示すものはなかった。ALK の遺伝

子異常を示すものは見られなかった。【考察】RAS 変異を示す症例は示さない症例に比べ小腸型が多い傾向が見られる一方、p53 過剰発現を示す比率は僅かに上回るにすぎなかった。大腸癌では比較的稀とされる HER2 の過剰発現が 1/40 例で見られたが、RAS 変異および p53 過剰発現のいずれも伴っていた。【おわりに】今回 HER2 遺伝子異常を示す大腸癌を 1 例抽出したが、臨床的に頻度は少なく、腫瘍内遺伝子発現および増幅についても検討したので併せて報告する。

ホルマリン固定病理組織からの LBC 標本作製法とその応用
～この LBC 標本ほしかった！ Ope 材料から簡単標本作製～

◎谷村 満知子¹⁾
滋賀医科大学附属病院 検査部¹⁾

I. はじめに

Ope 材料が提出された時に細胞診標本作製したいと思われても断念された方は多いのではないだろうか. なぜならホルマリンに浸漬したものを直接塗抹した標本作製しても染色態度が悪く鏡検するに値しない標本となる事を経験上認識しているからである.

通常細胞診標本はガラスに生検体を直接塗抹し湿固定をした後にパパニコロウ染色を行う. しかし今回我々はホルマリン固定組織片より LBC 標本を手軽に作製できる方法 (Histo LBC method) を考案した. また可能な限り新鮮検体で作製した標本 (直接塗抹法) と比較するとともに特殊染色についてもその有用性について述べる.

II. 作製法

ホルマリン固定された手術材料で観察したい部位は, まずメス等で 5mm 角程度切り出した. 切り出した組織は, シャーレ内で 0.5mm 角程度まで細切し, Red 保存液約 8ml にて混和し細胞を浮遊させた. 細胞浮遊液約 2ml を遠心管 (スピッツ) に分注し 2300 回転/5 分遠心後, 得られた沈渣はさらにイオン交換水 800 μ l で混和した. 専用チャンバーが装着された BD シュアパスTM プレコートスライド上にサンプルを分注し 10 分間静置の後に, 上清を取り除き, エタノールで 1～2 回洗浄を行いパパニコロウ染色にした.

III. 細胞所見

直接塗抹法は一般的に背景の赤血球や炎症細胞は増大する. 出現様式は集塊状で組織構築を保った状態で出現する. 細胞

質に収縮はなく繊細な染色傾向である. Histo LBC method の所見は, 直接塗抹法と細胞構築は類似していたが, 血球や炎症成分, 塗抹の不具合による固定不良はない. 細胞量が多いが, 細胞質は収縮傾向があり核クロマチン網に濃染傾向があった. パパニコロウ染色の他に PAS 染色, 免疫染色標本作製を試みた.

IV. まとめ

LBC 法で細胞診を鏡検する機会は増加傾向である. これまでの直接塗抹法の見方から LBC の見方が求められている. 希少例においては LBC 標本作製する事が大変困難であるが, Histo LBC method は LBC 標本の鏡検に対する習熟が容易となる画期的な方法である.

謝辞 この検討の機会をいただきました仙崎英人先生 (大阪府済生会中津病院病理診断科) に深く感謝いたします.

門脈ガスを呈した腸管スピロヘータ症の 1 症例

◎松原 亜季子¹⁾
滋賀医科大学医学部附属病院 病理診断科¹⁾

【はじめに】

腸管スピロヘータ症 (intestinal spirochetosis : IS) は人獣共通感染症の一つであり、診断には病理組織学検査による偽刷子縁の観察、免疫染色等が用いられている。無症状あるいは慢性下痢、血便を主訴とし、重症例はまれとされている。今回我々は、便塗抹検査が診断に有用であった、門脈ガスを呈した IS 症例を経験したので報告する。

【症例】

70 代 男性。既往歴として高血圧あり。X 日、下痢 (血便)、腹痛、心窩部痛を主訴に来院された。喫食歴は特筆すべきものなく、犬との濃厚な接触歴あり。BT37.0°C、BP146/79、WBC 12200 / μ L、CRP 1.7 mg/mL。腹部 CT にて下行~S 状結腸に壁肥厚、周囲脂肪織上昇並びに肝左葉実質内にガス像+、門脈内ガスを認めた。全大腸炎+門脈ガス血症として絶食+PIPC/TAZ 投与。便検体の塗抹検査ではグラム陰性のらせん状菌体を認め、IS が疑われた。X+3 日、経口摂取可、解熱および腹部症状の改善を認め PIPC/TAZ から MNZ 内服に変更。X+7 日、経過良好のため退院された。便培養では

Salmonella 属、*Campylobacter* 属等、感染性胃腸炎の起炎菌とされる菌は検出しなかったが、後述の遺伝子検索により、*B. pilosicoli* に特異的なバンドを検出し、同菌による IS と診断した。

【IS の遺伝子検索】

NucleoSpin Microbial DNA (タカラ社) を用い、便検体から DNA を抽出し、既報に則り、*Brachyspira* sp. (198bp) *B. pilosicoli* (823bp)、*B. hydysenteriae* (354bp) *Lawsonia intracellularis* (655bp) に対して conventional PCR を行った。

【考察】

門脈ガスを呈した IS を経験した。IS の感染経路としては、汚染された食物や、動物との接触歴があり、今回は犬から感染したものと考えられた。IS の診断には病理学的検査が有用とされているが、今回は門脈ガスのため内視鏡を実施できず、便のグラム染色・遺伝子検索が診断に有用であった。

形態学的判断に苦慮した t (4;17)(q11;q21)を有する AML with maturation の 1 症例

◎杉山 友紀¹⁾、西尾 勇佑¹⁾、徳永 秀理¹⁾、中西 孝尚²⁾、角坂 芳彦¹⁾、神田 晃¹⁾、蔦 幸治¹⁾
関西医科大学附属病院 臨床検査部¹⁾、血液腫瘍内科²⁾

【はじめに】AML with maturation は骨髄あるいは末梢血液において、20%以上の芽球を認め、好中球への分化傾向があり、かつ、骨髄において単球系細胞が 20%未満であることを特徴としている。今回、骨髄中に急性前骨髄性白血病 (APL) で見られるような異常細胞が出現していたが、総合的な検査所見より AML with maturation と診断され、後に t (4;17) (q11;q21) の染色体異常を認めた症例を経験したので報告する。【症例】60 歳代男性。1 年前から血小板減少を徐々に認め特発性血小板減少性紫斑病疑いで当院紹介となった。

【検査所見】末梢血液検査：WBC $31.2 \times 10^9/L$ (Neutro 14%、Blast 58.5%、Myelo 14%)、RBC $3.44 \times 10^{12}/L$ 、Hb 10.1g/dL、PLT $1.1 \times 10^9/L$ 、PT-INR 1.11、Fib 359mg/dL、D-dimer 5.0 $\mu g/mL$ 、LD 433U/L。骨髄検査：NCC $16.8 \times 10^4/\mu L$ 、Mgk 38/ μL 、Blast 31.6%、Myelo 52.2%。Blast は中～大型で核網やや繊細、核形は整～不整で、アズール顆粒やアウエル小体は認めず、典型的な AML with maturation に見られる Blast とは異なっていた。APL 様細胞としたものは、アズール好性の微細顆粒が充満した細胞であり、典型的な APL 細胞とは異

なり核不整はなく、核網も Promyelo とは判断し難いものであった。また少数ではあるが Faggot 細胞も認めた。細胞表面マーカーは CD13、CD34、CD117、HLA-DR 陽性。遺伝子検査で PML-RARA-mRNA は検出せず。以上の検査所見より AML with maturation と診断されたが、その後染色体検査で t (4;17) (q11;q21) の結果を得た。治療経過は、初回寛解導入療法後の骨髄検査では Blast 3.7%と減少したが、APL 様細胞は残存しており初回同様の染色体異常を認めた。再寛解導入療法では ATRA が併用され、その後の骨髄検査では APL 様細胞は殆ど消失し染色体検査、FISH 検査でも異常を認めなかった。しかし Blast が 19.5%残存し治療抵抗性であることが示唆された。【まとめ】芽球の増加に加えて、APL 様細胞が認められたため、形態学的な鑑別に苦慮した。APL 様細胞や Faggot 細胞の存在から、APL に関連する遺伝子染色体異常を推察することができ、染色体検査や治療経過からも、t (4;17) をもつ APL の関与が考えられた。典型例にとらわれず、異常細胞から多様な考察を行なう必要性を再認識した症例であった。

医 5

血液培養より検出された *Shewanella algae* の一症例 生化学的性状の重要性

◎鬼岡 萌¹⁾

兵庫県立尼崎総合医療センター¹⁾

[はじめに]

Shewanella 属は *Vivrio* 科に属する好気性グラム陰性桿菌であり、自然界に広く分布している。ヒトの材料から分離される *Shewanella* 属には *S.putrefaciens* と *S.algae* があり、大部分が *S.algae* といわれている。今回、化学療法目的に入院した患者の血液培養より本菌が検出された症例を報告する。

[症例]

70 代女性。直腸癌、肝転移、リンパ節転移を指摘され入院となり化学療法中。入院 2 週間後に発熱し、採血にて炎症反応の上昇が認められ、血液培養検査と MEPM の投与が実施された。

[微生物学的検査]

血液培養 2 セット中 1 セット、好気ボトルが 14 時間、嫌気ボトルが 16 時間で陽性となった。グラム染色では細いグラム陰性桿菌が認められた。35°C 好気培養にてマッコンキー寒天培地に透明でツヤのあるコロニーが発育し、オキシダーゼ

試験は陽性であった。グラム染色の形態学的特徴からブドウ糖非発酵菌と思われたが、培養ボトルの発育状態からブドウ糖発酵菌の可能性も考え、TSI 培地に穿刺した。数時間で H₂S 産生、ブドウ糖非分解となり *Shewanella* 属を疑い、API20NE と食塩加ペプトン水での培養、42°C での培養を行った。API20NE の同定菌名は *S.putrefaciens* となったが、生化学的性状が菌名と合わないため、質量分析および 16SrRNA 遺伝子解析を実施したところ *S.algae* と同定された。

[まとめ]

本菌はブドウ糖非発酵菌にもかかわらず、好気嫌気両ボトルで陽性になる。また、市販の同定キットでは *S.putrefaciens* しか掲載されておらず誤同定される可能性がある。*Shewanella* 属を疑う場合、質量分析がない施設においても同定キットの結果に加え生化学的性状の追加試験を行うことで、正しい菌名を導き出すことが重要である。

医 6

地域中核病院における臨床検査専門医としての15年間の取組とその成果

◎細川洋平¹⁾
近江八幡市立総合医療センター¹⁾

【目的】現在勤務の400床の自治体病院において検査科運営・病理診断業務と並行して取り組んだ教育研修、医療安全、地域禁煙推進等の活動を振り返り、病院運営、地域医療への貢献を検証した。

【方法】2004年に着任後、病理診断精度向上、検査科の活性化に努めると共に、2005年発生の死亡事例を契機に学ぶ組織作り着手し、「教学相長ず」の精神のもとに院外研修促進を含めた教育研修制度を創設した。2011年、インシデント事例検討開始、2014年からは医師参加を促し、インシデント当事者への面談をチームで実施し、心理的安全性を高める取組を進めた。面談冒頭で「言い訳も含めて思いの丈を存分にお話してください、個人の不十分さを含めて病院全体の課題と考え、改善したいと考えています」と述べるようにした。さらに、2003年の健康増進法施行を契機に2005年から禁煙外来、地域禁煙推進活動に従事し、同時に禁煙指導者養成を進めた。

【結果】教育研修制度により400人以上の職員が新資格を取得し管理加算取得に貢献し、院内研修も活性化した。延べ

12名の日本禁煙学会認定禁煙指導者が誕生し、職員喫煙率は10年間で15%から6%に減少し、地域全体でタバコ売上本数が30%減少した。剖検やCPCの増加に伴い臨床研修医が増加し、現在7名のフルマッチを得ている。2018年度は7名中6名が専攻医として当院を選んだ。インシデントレポート数は過去5年間で全体で1405件から1647件に増加し、医師報告数は12件から37件と増加した。病院収益は過去15年間で80億円から130億円に増加したが、人件費比率増大、手術件数減少により経常損益は悪化傾向にある。2018年度実施の健康ストレスチェック結果は必ずしも十分でなかった。

【結論】院内研修環境整備・人材育成・健康増進・医療安全環境整備により右肩上りの収益を示したが、医療の質向上、安心安全な医療環境の構築等、安定的病院運営上の課題解決に向けてなお一層の努力が必要である。

総合呼吸抵抗測定装置 MostGraph - 02 導入時の検討

◎内田 健¹⁾、盛本 美恵子¹⁾、山根 景次¹⁾、清水 俊宏¹⁾、角坂 芳彦¹⁾、神田 晃¹⁾、薦 幸治¹⁾
関西医科大学附属病院 臨床検査部¹⁾

【はじめに】2018年11月より臨床医の要望により総合呼吸抵抗測定装置 MostGraph-02 (CHEST 社) を用いて呼吸抵抗検査を始めることになった。測定には、利便性やコストの関係から他社のプラスチック製のスパイロフィルタ (ミナト医科学社) を使用した。強制オシレーション法 (FOT) による呼吸抵抗測定について様々な検討の報告はあるが、日本人を対象とした FOT による呼吸抵抗測定に関するガイドラインは現在出ていない。そのため、導入にあたり当検査室の測定条件での測定値の精度の確認の為検討を行ったので報告する。【方法】健常な検査部スタッフを対象として呼吸抵抗 R5、R20、R5-R20、呼吸リアクタンス X5、共振周波数 FRES、低周波面積 ALX について確認を行った。①11名にスパイロフィルタを使用し、被検者自身が頬を押さえて検査した測定値とドイツ Jaeger 社のマスタースクリーン IOS の予測値や測定値と年齢、身長について確認した。②9名にスパイロフィルタの先端につけたシリコンマウスピースを使用して検査を行った場合とシリコンマウスピースを使用せずスパイロフィルタのみを使用した場合の比較を行った。③8名にス

パイロフィルタを使用し、被検者自身が頬を押さえた場合と検者が押さえた場合の比較を行った。④3名で約10日以上日差再現性の確認を行い、その後2名による約1ヶ月毎の再現性の確認を行った。【結果】①測定値と予測値は R5-R20 以外は正の相関を示し、測定値は予測値に比し同等か低値傾向であった。また、年齢に対して呼吸抵抗は相関を認めなかった。身長に対して X5 は正の相関、他は負の相関であった。②シリコンマウスピースをつけた場合、つけない場合に対して正の相関を示すが測定値は低値傾向であった。③頬を検者が押さえた場合、被検者自身が押さえた場合に対して正の相関を示した。④呼吸抵抗 R5、R20 の変動係数は 15% 以下で、月毎の測定でも大きな変動は見られなかった。【結語】測定条件による影響する項目の違い、また被験者による影響の程度にも違いが見られた。結果を評価する上で測定条件等を考慮する必要がある、前回と同一測定条件下で測定することが重要であると考え。当日は文献的考察を加えて報告する。