

ヘマトキシリン単染色後に FISH 標本作製を行うことの有用性

◎阿出川 裕子¹⁾、中村 信之¹⁾、笹沼 美香¹⁾、山川 博史¹⁾
国立研究開発法人 国立がん研究センター東病院¹⁾

【はじめに】HER2 (human epidermal growth factor type 2) 遺伝子は乳癌，胃癌，大腸癌で過剰発現することが知られている。そして，FISH (fluorescence in situ hybridization) 法は HER2 遺伝子の発現を評価するために使用されている。FISH 法は細胞毎の遺伝子異常を観察することが可能であるが，暗視野で観察する為に腫瘍細胞と正常細胞，多核細胞と大型の単核細胞との識別に苦慮する事がある。

当院で使用している蛍光顕微鏡は撮影位置の座標軸を記録し後から呼び出せる機能や，焦点深度を変更した複数の写真を1つの平面上に合成する機能 (Zスタック) を有している。これらの機能を利用して FISH 標本上の細胞を同一標本の明視野写真と対比しながら検査を実施しており，その方法及び細胞の識別に有用であった症例を報告する。

【方法】FISH 標本作製装置として ThermoBrite Elite (ライカマイクロシステムズ株式会社) を使用し，プローブにはパスビジョン®HER-2 DNA プローブキット (アボットジャパン合同会社) を用いた。観察及び撮影は蛍光顕微鏡 BZ-X800 (株式会社キーエンス) を使用した。これらを使用して以下の手順で FISH 標本作製及び観察を行った。最初にヘマトキシリン単染色 (以下，単染色) を行い HER2 免疫染色の標本と対比して観察評価部位を決定し，写真撮影および座標軸を記

録した。次にその単染色標本を使用して FISH 標本を作製した。最後に標本を観察する際は単染色標本で記録した座標軸を呼び出して同部位を撮影し，シグナルのカウントは単染色標本の写真と対比して行った。

【結果】FISH 標本の観察時に単染色の写真と対比することで腫瘍細胞と正常細胞，多核細胞と大型の単核細胞の識別が可能であり，好酸球の顆粒が非特異的なオレンジ色の蛍光シグナルとして観察されることや，ヘモジドリン顆粒や赤血球は非特異反応を示さないなどの知見が得られた。

【まとめ・考察】FISH 標本作製時にヘマトキシリン単染色を追加することで，暗視野上では困難であった腫瘍細胞の識別が容易となった。更に暗視野での観察時間が短縮され，蛍光シグナルの退色の軽減にも繋がると思われる。その他にも観察者間変動の評価や，新人教育にも役立っている。

【連絡先】04-7133-1111 (6309)