

病理検査

病理検査部門の精度管理は、県内検査施設の染色技術の標準化及び向上を目的として実施している。2022年度（以下、今年度）は、HE染色には36施設、免疫染色CK(AE1+AE3)には29施設が参加して行われた。今年度も信州大学医学部倫理委員会で使用許可を得たヒトの臓器を使用した。

I. HE染色における精度管理

【はじめに】

HE染色は、病理組織検査の最も基本となる染色であり、その染色標本から多くの病理組織学的な情報を得ることができる。しかし、組織の固定状態や染色環境の変化により、なかなか安定した結果が得られないのも事実である。日常業務で必要不可欠な染色であるため、今年度も精度管理の対象とした。

【材料・方法】

1. 材料及び実施要項

10%中性緩衝ホルマリンで48時間固定した胃癌の手術材料を型どおりにパラフィン包埋し、約3 μ mに薄切した未染色標本を2枚ずつ参加施設に配布した。

各施設にて染色後、いずれか良く染まった標本に丸印をつけてもらい、アンケート（染色方法、試薬の調合方法や自己評価などの調査目的）と共に2枚とも回収した。

今年度からJAMTQCへの移行に伴い、従来の評価Aを2段階に分け、4段階評価となるよう評価区分を改定した。

2. 判定方法

病理検査研究班役員7名（内、認定病理検査技師5名）および信州大学医学部保健学科太田浩良先生（信州大学医学部保健学科教授・病理医）に依頼し、判定基準に従い評価した。太田先生には

実際に診断する立場で評価、検閲していただいた。

1) 判定ポイント

標本を弱拡大で鏡検して、核・細胞質が明瞭に染色され、組織構築に応じて細胞質・間質などが区別されているかどうか、腫瘍細胞が見やすいかを評価した。強拡大では、共染の有無、細胞質の染色性の差異、炎症細胞や粘膜のリンパ小節の濾胞構造が観察しやすいか、などを判定した。

2) 判定基準（評価点数）

1. ヘマトキシリンの染色態度	
1) 核の色調及び濃淡	6点
2) ヘマトキシリン共染の有無	6点
2. エオジンの染色態度	
1) 細胞質の色調	6点
2) 間質の色調	6点
3) エオジンのかぶりの有無	6点
3. 標本全体の染色態度	
バランス（赤・青）	15点
4. 封入状態	5点
減点方式で評価点を算出	合計 50点満点

3) 評価区分

評価A：50～46点

色調のバランスが良く、全体像および組織内の構造が明瞭に染色され診断に適した標本

評価B：45～41点

色調のバランスがやや悪く、染色の一部に不明瞭さがあるものの、検査をする上で差し支えない標本

評価C：40～31点

色調のバランスが悪く、染色に不明瞭さがあり、詳細な検査をする上で問題を呈する標本

評価D：30点以下

目的とする結合組織等が不明瞭（鑑別困難）であり、診断に用いるには支障をきたす標本

【結果】

1. 成績

今年度の判定結果は、以下のとおりである。

(表 1) 評価区分と施設数

評価	A		B	C	D	計
点数	50	49-46	45-41	40-31	30-0	
施設数	11	24	1	0	0	36
(%)	(30)	(67)	(3)	(0)	(0)	(100)

評価Aのうち50点満点は11施設でそれらの標本は核・細胞質・間質の染色性がともに良く、バランスがとれた良好な染色であった(写真1~4)。

49~48点の標本はヘマトキシリンの共染あるいはエオジンのかぶり、染色の色調や濃淡において程度に応じて減点した(写真5,6)。

47~46点の標本では、ヘマトキシリンの共染とエオジンのかぶりが同時に見られた施設や、間質の染め分け不良などの施設があった(写真7~11)。

45~41点の標本はヘマトキシリンの共染が強い一方で、エオジンのかぶりにより全体的に核所見が弱い標本であった(写真12)。

今年度も封入状態を評価に入れたが、封入時の気泡等での減点はなかった。

評価項目と減点施設数は、以下のとおりである。

(表 2) 減点項目の割合

項目	減点施設数	%
1. ヘマトキシリンの染色態度		
1) 核の色調及び濃淡	5	13.9
2) ヘマトキシリン共染の有無	11	30.6
2. エオジンの染色態度		
1) 細胞質の色調	5	13.9
2) 間質の色調	18	50.0
3) エオジンのかぶりの有無	8	22.2
3. 標本全体の染色態度		
バランス(赤・青)	18	50.0
4. 封入状態	0	0

2. アンケート調査結果

自動染色装置は、30施設(83.3%)で使用されている。メーカーはサクラ25施設(69.4%)、Leica5施設(13.9%)であった。ヘマトキシリンの使用状況をみると、マイヤーは26施設(72.2%)で使われており、そのうちの8施設は既製品を使用している。カラッチは10施設(27.8%)で使われており、そのうちの2施設は既製品を使用している。次に、エオジンの使用状況をみると、エオジンの既製品を使用している施設は11施設(30.6%)であり、例年と大きな変化はなかった。

また、透徹に使う有機溶剤として31施設(86.1%)がキシレンを、各2施設(5.6%)がHemo-Deとレモゾールを、1施設(2.8%)がClear-plusを使用していた。封入剤に関しては31施設(86.1%)がマリノール、4施設(11.1%)がMulti Mount480、1施設(2.8%)がエンテランニューを使用していた。

尚、例年安定して良い評価を得ている2施設の染色液の調製法(表3)を紹介する。

【考察】

今年度は評価区分を4段階に改定する際、従来の評価A(50~41点)を評価A(50~46点)と評価B(45~41点)の2つに分けることとした。これにより、今まで評価Aであった施設間での差が減少し、今後さらなる染色精度の向上につながっていくと考える。

実際の判定としては、評価A50点満点が11施設で、昨年度より1施設増加した。評価A(49~46点)は24施設で昨年度より2施設増加し、評価B(45~41点)は1施設、評価C(40~31点)と評価D(31~0点)の施設はなかった。

評価A(49~48点)の標本はヘマトキシリンとエオジンの減点項目のどちらか一方で減点される傾向にあったが、評価A(47~46点)の標本はヘマトキシリン、エオジンが複合的要因となり減点が増加される傾向にあった。評価B(45~41点)も同様に両方の複合的要因による減点であるが、よりヘマトキシリンの共染とエオジンのか

ぶりが目立ち、染色性のバランスにおいてやや改善の余地が見られる標本となっていた。

今回、評価区分の見直しに伴い評価 B となった施設はあるが、全体の平均点としては 48.2 点であり、昨年度の 47.9 点とほぼ同様の結果となった。

昨年度と比較し、ヘマトキシリンの共染で減点となる施設が減少した一方で、エオジンの染色性で減点となる施設が増加した。毎年、各施設で前年度に指摘された点を含めて改善、検討されている中で、ヘマトキシリンとエオジンのバランスを適度に保つことの難しさが伺える結果となった。

しかし、全体の平均点自体は昨年度よりも改善されていることから、引き続き全体の底上げのため、長野県の精度管理として改善、検討を継続していくことが重要だと考える。

【まとめ】

実際の病理検査の現場では、毎回同じプロトコールや染色液を用いても、組織の種類や固定条件、切片の厚さ、室温、染色液の劣化などの様々な要因により、同じ染色性を保つことは難しい。検体数の多い施設では尚更である。

しかし、内部精度管理の一環として、基本的なことではあるが、毎回、染め上がりの染色性を顕微鏡で観察することや、染色液の使用期間の適正な管理の確認や染色時間の調整で改善できることもある。染色性の安定している他施設の染色法を参考にすることも有益である。

今後もより良い HE 染色標本を作製するために、日常の精度管理に努めていただきたい。

(表 3) 染色液調製法

〈例 1〉今年度 50 点評価施設

ヘマトキシリン染色液 (マイヤー変法)

1. 100%エタノール 15ml にヘマトキシリン 1.5g を溶解
2. 蒸留水 1000ml にカリウムみょうばん 50g を溶解
3. 溶液①と②を混和した後、よう素酸ナトリウム 0.3g を加え 5 分混和、完全溶解
4. クエン酸一水和物 1g と抱水クロラール 50g を溶解

エオジン染色液

1. 蒸留水 30ml にエオジン 3g を溶解後、100%エタノール 270ml にそれを加える
2. 95%エタノール 600ml を加え混和後、酢酸 3ml を加え完全溶解

試薬メーカー : ヘマトキシリン ; メルク

エオジン ; メルク

染色時間 : ヘマトキシリン ; 12 分

エオジン ; 8 分

〈例 2〉今年度 50 点評価施設

ヘマトキシリン染色液 (カラッチ変法)

1. カリウムミョウバン 50g とヨウ素酸ナトリウム 0.4g を 500ml の蒸留水で溶解
2. ヘマトキシリン 2g を蒸留水 300ml で溶解
3. ①に②を加え、グリセリン 200ml を加えて混合する。
4. これに氷酢酸 3ml を加え一晚攪拌。濾過して使用液とする。

エオジン染色液

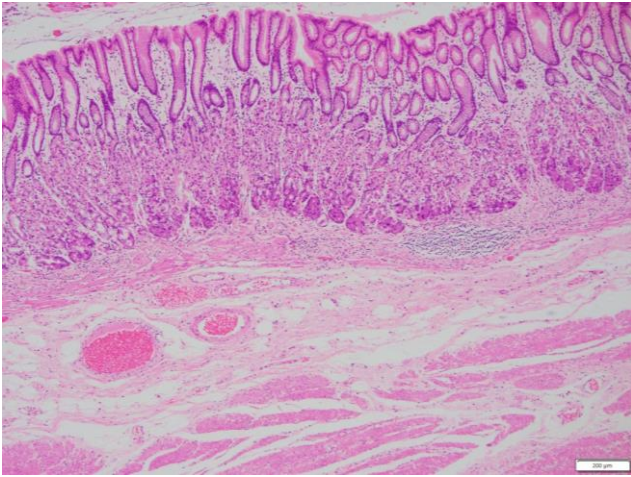
1. 1%エオジン水溶液 40ml に 80%エタノール 120ml、酢酸 0.5ml を加え混合する。

試薬メーカー : ヘマトキシリン ; メルク

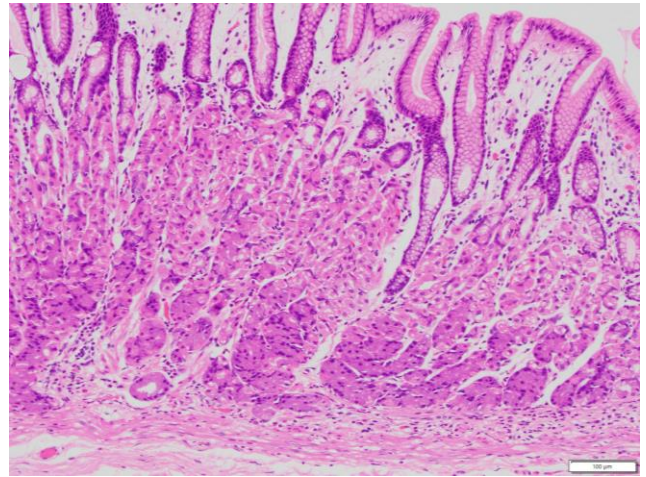
エオジン ; メルク

染色時間 : ヘマトキシリン ; 13 分

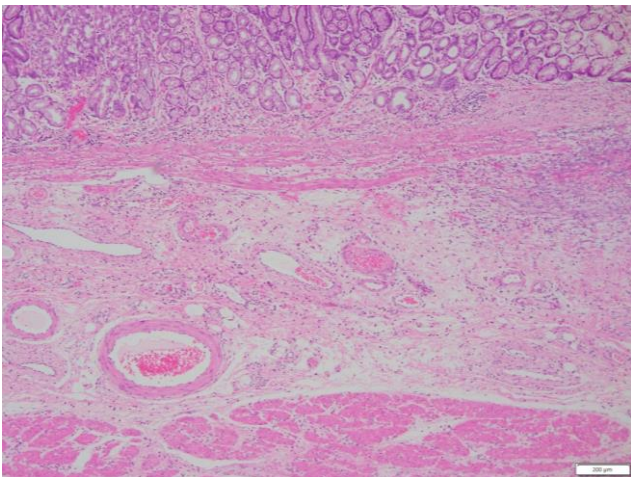
エオジン ; 30 秒



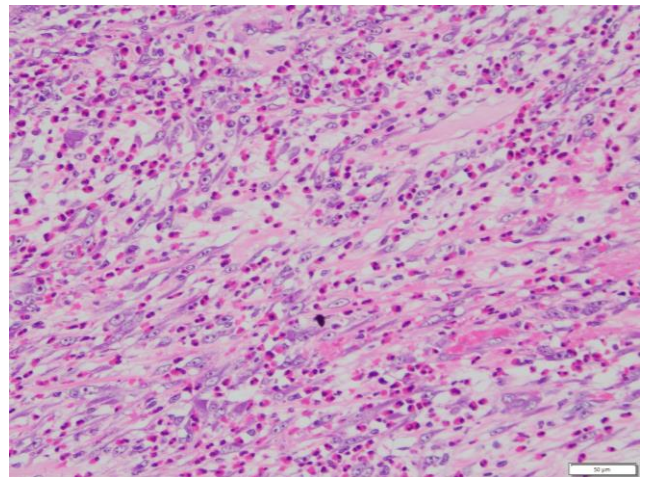
(写真1) 評価A 50点 (対物4倍)
ヘマトキシリンとエオジンのコントラストが良い



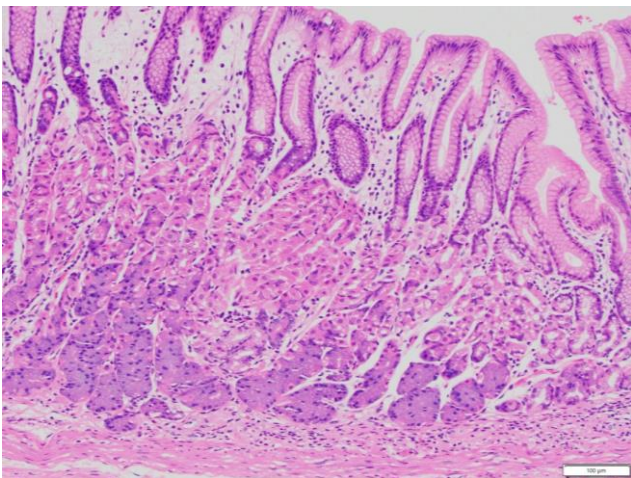
(写真2) 評価A 50点 (対物10倍)
ヘマトキシリンとエオジンのコントラストが良い



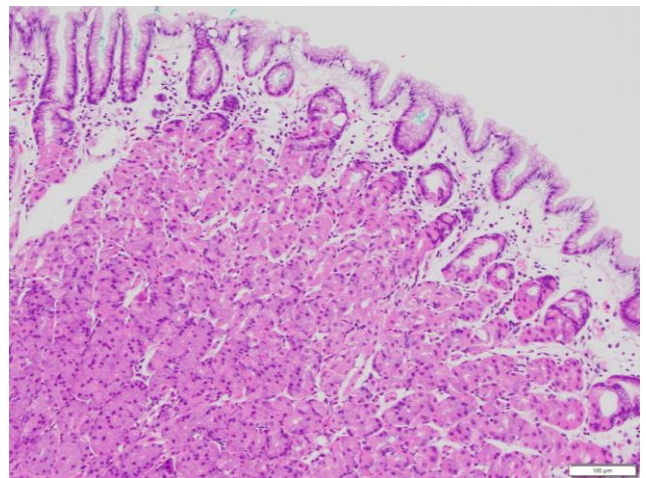
(写真3) 評価A 50点 (対物4倍)
間質の染色性(染め分け)が良好



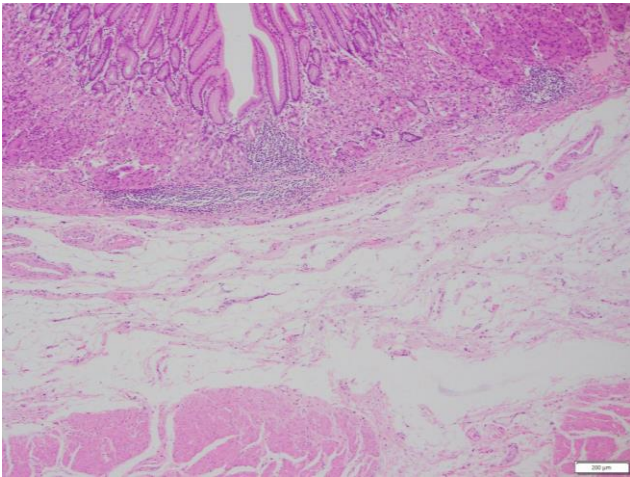
(写真4) 評価A 50点 (対物20倍)
赤血球や好酸球を識別できる



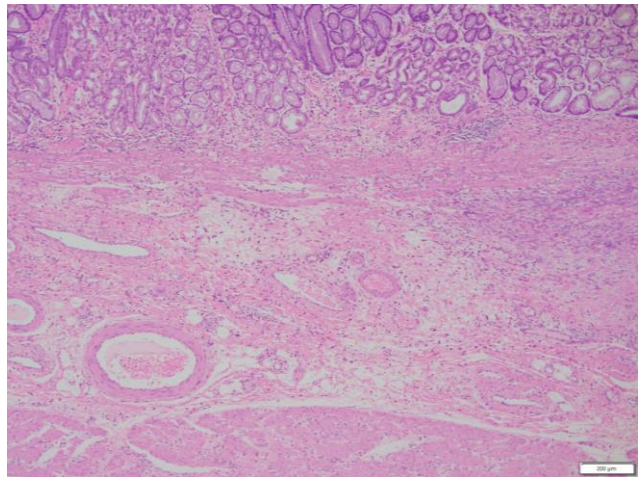
(写真5) 評価A 49点 (対物10倍)
ヘマトキシリンがやや青みがかった色調



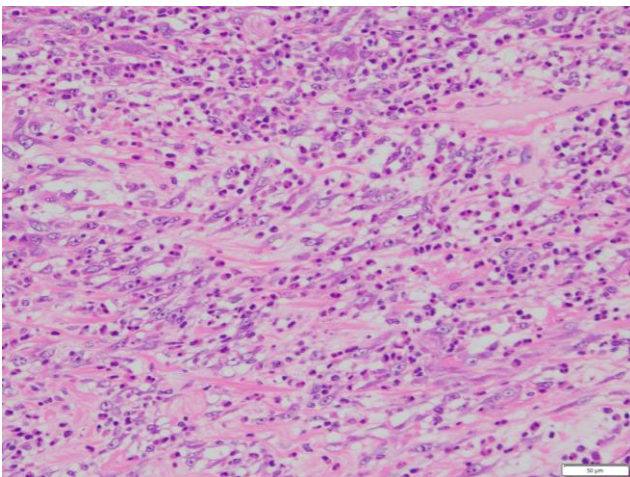
(写真6) 評価A 48点 (対物10倍)
細胞質の染色性が部分的に不良



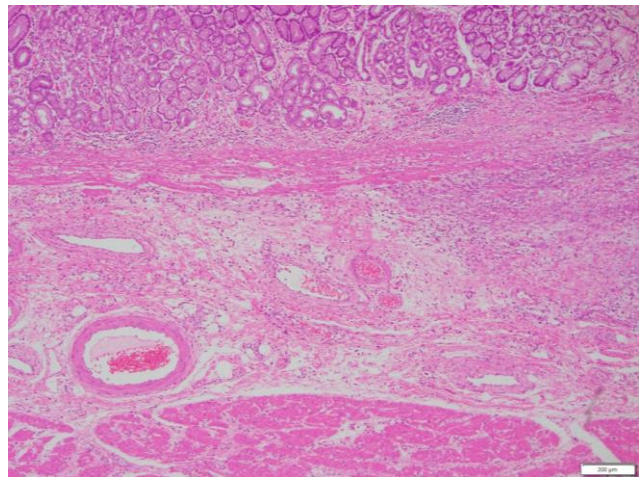
(写真7) 評価A 47点 (対物4倍)
エオジンがやや薄く、粘膜筋板等が不明瞭



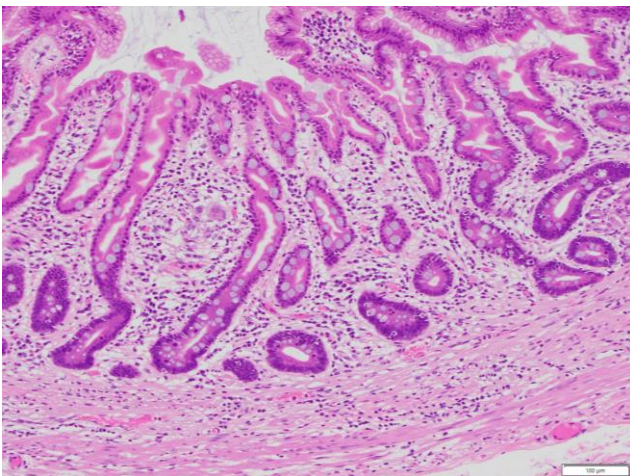
(写真8) 評価A 46点 (対物4倍)
エオジンが薄く、間質の染色性(染め分け)が不良



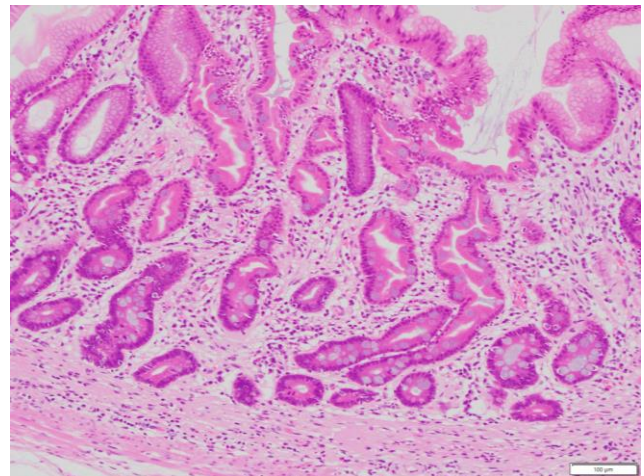
(写真9) 評価A 46点 (対物20倍)
赤血球や好酸球を識別しにくい



(写真10) 評価A 46点 (対物4倍)
エオジンの染色性が濃く、かぶりあり



(写真11) 評価A 46点 (対物10倍)
ヘマトキシリンの共染が強い



(写真12) 評価B 44点 (対物10倍)
ヘマトキシリンの共染、エオジンのかぶりあり

(表4) 2022年度 HE染色精度管理参加施設染色方法(概要)

染色方法	ヘマトキシリン (min)	分別	sec	色出し	min	エオジン (min)	水洗 (sec)	ヘマトキシリン(種類)	エオジン(種類)	アルコール%	エオジン%	酢酸量	評価
1 手染め	8なし			温水	5	30	3	Mayer's 変法(メ)	エオジンY(和)	1	1	0.3	50A
2 Autostainer XL(L)	8なし			流水(水道水)	15	5	10	Mayer's 変法(メ)	エオジンY(和)	60	0.25	0.03	46A
3 DRS-prisma(サ)	12なし			温水	5	8	60	Mayer's 変法(メ)	エオジンY(メ)	95	0.33	3	50A
4 DRS-prisma(サ)	12なし			流水(水道水)	15	6	10	Mayer's 変法(メ)	エオジンY(メ)	95	0.17	0.33	48A
5 DRS-prisma(サ)	5なし			流水(水道水)	15	8	4	Mayer's 原法(メ)	エオジンY(和)	80	0.25	0.5	50A
6 DRS-prisma(サ)	20なし			流水(水道水)	10	10	30	Mayer's 原法(メ)	エオジンY(武)		0.25	0.5	46A
7 DRS-prisma(サ)	10なし			温水	10	2.17	10	Mayer's 変法(シ)	エオジンY(和)	78.5	0.19	0.28	50A
8 Autostainer XL(L)	5なし			流水(水道水)	15	1	5	Mayer's 変法(メ)	エオジンY(ナ)	80	0.25	0.1	48A
9 DRS-prisma(サ)	10 0.25%塩酸 70%アルコール		3	温水	10	5	3	2倍力タッチ(武)	ピュアエオジン(武)				47A
10 手染め	35なし			TBS(トリス緩衝液)	10	10	10	Mayer's 変法(メ)	エオジンY(和)	70	0.25	0.5	50A
11 DRS-prisma(サ)	12 0.5%塩酸 70%アルコール		17	流水(水道水)	5	1	10	Carazzi's 変法(メ)	エオジンY(和)	60	0.25	0.28	44B
12 DRS-prisma(サ)	20 0.25%塩酸水		2	流水(水道水)	7	3		Carazzi's 変法(メ)	エオジンY(メ)	100	0.03	0	46A
13 手染め	13 0.5%塩酸水		3~6	流水(水道水)	15	0.5	3~5	Carazzi's 原法(メ)	エオジンY(メ)	80	0.25	0.3	50A
14 DRS-prisma(サ)	15 0.375%塩酸水		5	流水(水道水)	15	0.75	5	Carazzi's 変法(メ)	エオジンY(メ)	80	1	0.3	48A
15 DRS-prisma(サ)	20なし			流水(水道水)	15	13	30	Mayer's 変法(メ)	エオジンY(和)	80		0.5	48A
16 DRS-prisma(サ)	15 0.25%塩酸水		10	流水(水道水)	5	5	15	ヘマトキシリン3G(サ)	エオジンY(和)	76	1	0.18	46A
17 DRS-prisma(サ)	30 2%酢酸水		5	TBS(トリス緩衝液)	10	10	5	Mayer's 変法(メ)	エオジンY(和)	79	0.25	0.5	47A
18 DRS-prisma Plus(サ)	10 1.5%酢酸水		40	流水(水道水)	10	4	60	ヘマトキシリン3G(サ)	エオジン(サ)				49A
19 DRS-prisma(サ)	15 0.5%塩酸 70%アルコール		30	流水(水道水)	10	1	10	ヘマトキシリン3G(サ)	エオジン(サ)				46A
20 DRS-prisma(サ)	40 1%塩酸アルコール		7	温水	10	3	10	Carazzi's 変法(メ)	エオジンY(関)	80	0.5	1	50A
21 ST5020(L)	25 1%酢酸水		5	流水(水道水)	15	5	<5	Mayer's 原法(シ)	エオジンY(シ)	80	1	0.5	46A
22 DRS-prisma(サ)	10なし			温水	10	10	5	Mayer's 変法(メ)	エオジンY(メ)	60	0.25	0.5	50A
23 ST5020(L)	5なし			流水(水道水)	15	1	5	NEWヘマトキシリンtype M(武)	NEWエオジンtype M(武)				48A
24 DRS2000(サ)	30なし			PBS	0.17	4	60	Mayer's 変法(メ)	エオジンY(和)	70	0.25	0.5	48A
25 手染め	10なし			流水(水道水)	5	1.5	2~3	マイヤーヘマトキシリン(サ)	エオジン(サ)				49A
26 手染め	20なし			温水	10	0.33	5	Mayer's 変法(メ)	エオジンY(和)	90	0.3	0.3	49A
27 DRS-prisma(サ)	10なし			流水(水道水)	10	5	15	Mayer's 変法(メ)	ピュアエオジン(武)				50A
28 DRS-prisma(サ)	3なし			流水(水道水)	15	10	20	Mayer's 変法(メ)	エオジンY(メ)	95	0.33	0.33	49A
29 DRS-prisma(サ)	15 0.25%塩酸水		30	流水(水道水)	3	5		Carazzi's 変法(メ)	エオジンY(メ)	95	0.2	0	48A
30 DRS-prisma(サ)	5なし			流水(水道水)	10	5	10	ヘマトキシリン3G(サ)	エオジン(サ)				50A
31 Autostainer XL(L)	5なし			温水	10	3	300	Mayer's 変法(メ)	エオジンY(関)	95	0.3	0.3	49A
32 手染め	30 0.25%塩酸水		8	温水	13	2.5	3	Carazzi's 変法(メ)	エオジンY(和)	95	1	1	50A
33 DRS-prisma(サ)	15 0.1%塩酸水		5	流水(水道水)	10	5	120	ヘマトキシリン3G(サ)	エオジン(サ)				49A
34 DRS-prisma(サ)	20なし			流水(水道水)	10	5	10	Carazzi's 変法(メ)	エオジン(サ)				46A
35 DRS-prisma Plus(サ)	6なし			流水(水道水)	10	3	10	ヘマトキシリン3G(サ)	エオジン(サ)				49A
36 DRS-prisma(サ)	10 0.5%塩酸 70%アルコール		10	流水(水道水)	15	1	60	2倍力タッチ(武)	ピュアエオジン(武)				46A

(L):Leica,(サ):サクラファインテックジャパン,(メ):メルク,(シ):シグマ,(武):武藤化学,(和):和光純薬,(ナ):ナカライテスク,(関):関東化学

II. 免疫染色 (CK AE1+AE3) における精度管理

【はじめに】

CK(AE1+AE3) は AE1 が Type I の CK10/12/14/15/16/19、AE3 が Type II の CK1/3/4/5/6/7/8 を認識するカクテル抗体であり、ほぼ全ての上皮性細胞や癌腫に反応する汎上皮性マーカーである。また、抗 CK(AE1+AE3)抗体は、上皮細胞の細胞質に反応を示す。低分化癌・未分化癌と非上皮性悪性腫瘍との鑑別にも有用であり、実施件数も年々増加している。

そこで、昨年度免疫染色 CK(AE1+AE3)の精度管理を実施したところ、約半数の施設が評価 B または評価 C となった。昨年度の精度管理調査が各施設の染色性の改善につながったかを確認するため、今年度も免疫染色 CK(AE1+AE3)を行った。

【材料・方法】

1. 材料及び実施要領

10%中性緩衝ホルマリンで 48 時間固定されたヒトの消化管（食道および胃）。このパラフィン包埋ブロックを約 3 μ m に薄切し、未染切片を 3 枚ずつ参加施設に配布した。1 枚を全体像確認の HE 用、2 枚を免疫染色 CK(AE1+AE3)用とした。各施設にて染色後、判定を希望する 1 枚を選んでもらい、配布切片をすべて回収した。

染色方法、抗体などについて Google フォームからアンケートの回答をお願いした。

2. 判定方法

病理検査研究班役員 7 人（内、認定病理検査技師 5 人）と信州大学医学部保健学科太田浩良教授（病理医）が判定規準に従い評価した。太田先生には実際に診断する立場で評価、検閲していただいた。

1) 判定ポイント

目的とする細胞、部位が染色されているか、染色ムラや非特異反応がないか、後染色との balan

ス、標本適正（アーチファクト、コンタミ、封入不良など）を評価した。

2) 評価区分

※.JAMTQC 移行に伴い、今年度から評価 A・B・C・D の 4 段階評価へ変更した。

【評価 A】

診断上支障のない標本、良好な染色を示す標本

目的とする細胞、部位が染色され、判定に影響のある染色ムラや非特異反応が見られない。病理診断を行なう上で適した標本

【評価 B】

改善の余地はあるが診断上支障のない標本

目的とする細胞や部位が染色されているものの、染色性が弱いと思われる標本

【評価 C】

診断上支障が出る可能性のある標本

目的とする細胞、部位に染色性が弱い部分があり、判定に苦慮する標本

【評価 D】

診断不能な標本

目的とする細胞、部位が染色されず診断上支障が出ると考えられる標本

【結果】

1. 判定結果

参加施設 29 施設

評価 A・・・ 18 施設 (62%)

評価 B・・・ 8 施設 (28%)

評価 C・・・ 1 施設 (3%)

評価 D・・・ 2 施設 (7%)

評価 A 18 施設中 14 施設は明瞭に染色され、染色ムラがなく、後染色とのコントラストも良く、標本にも問題がない優れた標本であった。（写真 1-12）また、染色性が良好で診断に支障がない程度 of 非特異反応（背景染色）がみられた 4 施設もコメント付きで評価 A とした。

評価 B 8 施設は扁平上皮細胞を含む被覆上皮細胞の染色性には問題はないが、胃の固有腺細胞

において発色感度の弱い部分が見られる施設が多かった。(写真 13-15)

評価 C 1 施設は胃の固有腺細胞において染色性が弱く、全体的に染色ムラが見られた。(写真 16-18)

評価 D 2 施設は本来染色されるべき細胞や部位の染色性が弱い標本であった。(写真 19-21)

2. アンケート調査結果

以下の 7 項目について集計したので報告する。
※整数で表記しているため、一部合計が 100%にならない表があることをご承知おきください。

(表 1) 染色方法

染色方法	施設数	%
自動染色装置	22	76
用手法	7	24

免疫染色を行っている全 29 施設中、22 施設 (76%) が自動染色装置を導入していた。用手法は 7 施設 (24%) であった。自動染色装置を導入している施設でも、用手法を併用している施設が 5 施設みられた。

(表 2) 自動染色装置名

染色装置メーカー	染色装置名	施設数	%
ロシュ	ベンチマーク GX	5	23
	ベンチマーク ULTRA	4	18
ニチレイ	HISTO STAINER 36A	7	32
ライカ	BOND MAX	4	18
	BOND III	2	9

メーカー別ではロシュが 9 施設 (41%) と最多で、次いで 7 施設 (32%) のニチレイ、6 施設 (27%) のライカであった。

装置名別ではニチレイの HISTO STAINER 36A が 7 施設 (32%) と最多。次いでロシュのベンチマーク GX が 5 施設 (23%) であった。

(表 3) 一次抗体

メーカー名	クローン名	自動染色施設数	用手法施設数	施設数	%
ニチレイ	AE1/AE3	10	2	12	41
ライカ (Novocastra)	AE1/AE3	7	2	9	31
アジレント (DAKO)	AE1/AE3	3	1	4	14
ロシュ	AE1/AE3 /PCK26	2	0	2	7
Biocare medical	AE1/AE3	0	1	1	3
未回答		0	1	1	3

一次抗体の使用状況は、メーカー別ではニチレイが 12 施設 (41%) で最多、次いで 9 施設 (31%) のライカ (Novocastra)、4 施設 (14%) のアジレント (DAKO) であった。

(表 2) の染色装置メーカーと一次抗体のメーカー数が異なるのは、染色装置メーカーの専用試薬ではなく、別のメーカーの抗体を使用し、セミオートで実施している施設が多くみられたためと推測する。

(表 4) 二次抗体

メーカー名	キット名	自動染色施設数	用手法施設数	施設数	%
ニチレイ	ヒストファイン シンプルステイン MAX-PO(MULTI)	6	2	8	28
	ヒストファイン シンプルステイン MAX-PO (M)	1	0	1	3
ロシュ	ultra View DAB ユニバーサルキット	7	0	7	24
	Opti View DAB ユニバーサルキット	2	0	2	7

アジレント	Envision +	0	3	3	10
ライカ	Bond Polymer Refine Detection	6	0	6	21
	自家調整	0	1	1	3
	未回答	0	1	1	3

二次抗体はニチレイのヒストファイン シンプルステイン MAX-PO(MULTI)が 8 施設(28%)と最多であった。

(表 5) 抗原賦活化の方法

抗原賦活化方法	自動染色施設数	用手法施設数	施設数	%
加熱	19	7	26	90
蛋白分解酵素	3	0	3	10

全施設が賦活化をすると回答した。加熱による賦活化 26 (90%) に対し、蛋白分解酵素による賦活化と回答した施設は 3 施設 (10%) みられた。

(表 6) 固定液の種類

固定液の種類	施設数	%
10%中性緩衝ホルマリン	23	79
複数使用	6	21

10%中性緩衝ホルマリンを使用している施設が多くみられた。複数使用施設では 10%中性緩衝ホルマリンに加え、15% or 20%ホルマリンや、20%中性緩衝ホルマリンを使用していた (外部からの委託を受けており種類は不明という施設も含まれる)。

固定時間については、多くの施設がゲノム研究用・診療用病理組織検体取扱い規程に沿った検体処理をしていた。

(表 7) コントロールの有無

コントロールの有無	自動染色	用手法	施設数	%
陽性のみ	10	5	15	52
陽性・陰性共に	6	0	6	21
なし	5	2	7	24
必要に応じて	1	0	1	3

陽性コントロールのみ実施する施設が 15 施設 (52%) と最多で、陽性・陰性共に実施する施設が 6 施設 (21%) あった。コントロール未実施 (内因性コントロールで確認の施設を含む) の施設は 7 施設 (24%) だった。必要に応じてとしている施設では、分化傾向の特定しがたい腫瘍や染色性に疑問がある場合に陽性コントロールを染めているという回答であった。

【考察】

今年度は、昨年度に引き続き免疫染色(CK AE1+AE3)を実施した。参加施設は 29 施設で、90%の施設が A または評価 B となった。昨年度約半数の施設が B または評価 C だったことから、各施設で染色工程等の見直しが適切に行われたと考えられる。その一方で残りの 10%の施設は染色性が弱く、診断に支障をきたす恐れがあった。また、評価 A においても非特異反応 (背景染色) が見られた施設もあり、未だ改善の余地があると考えられる。

評価 A を得た 18 施設中 15 施設は、自動染色装置を使用していた。自動染色装置は、ロシュとニチレイがそれぞれ 6 施設 (約 33%) と多く、次いで 3 施設 (17%) のライカであった。評価 B の 8 施設のうち、自動染色装置を使用している施設は 5 施設、用手法は 3 施設であった。染色方法による大きな差はなく、評価 B の施設では、被覆上皮細胞は比較的良好な染色性であったが、胃固有腺細胞において染色性が弱い部分が見られた。評価が C・D と下がるごとに染色性はさらに弱くなる傾向が見られた。

一次抗体について、希釈済み抗体 (RTU 抗体) を使用していた施設は評価 A で 12 施設 (約 67%)、

評価 B では 4 施設 (50%) であった。また、抗体の使用期限については、評価 A となった 8 施設 (44%) では期限内であったが、残りの 10 施設 (56%) では期限切れや期限不明の抗体を使用していた。以上から抗体の種類や使用期限に限らず、日頃の精度管理が重要であると考えられた。

今回、7 施設でマスト細胞が染色される非特異反応 (写真 22) が確認された。メーカーに問い合わせたところ、「賦活が強めに設定されていたり、抗体の染色性が增強されているためにこのような非特異反応は起こりうる」との回答を得た。病理医からは、「非特異反応であると明確に分かるので診断には影響はない」と意見をいただいたので減点の対象とはしていない。しかし、非特異を抑えるための方法はあるので、各施設の病理医と相談し、必要に応じて対策を講じてほしい。

抗 CK(AE1+AE3)抗体はカクテル抗体ということもあり、どれか一つの抗体が減弱していても分かりにくいという事が考えられる。染色性が弱い施設では再度工程を見直すなど検討を推奨する。

【まとめ】

免疫染色(CK AE1+AE3)は上皮性腫瘍と低分化癌腫・肉腫との鑑別に有用である。これらの結果で治療方針も大きく変わることもあり、病理診断では重要かつ、鑑別の際に多用される。自動化が進む施設が多い中、用手法で染めている施設もある。いずれにせよ染色後の評価をしっかりと行い、適切に染色工程が実施されたかをチェックし、病理医に提出することが大切である。検体が提出されてからの処理方法、機器のメンテナンス、条件設定など、様々な工程が染色結果に影響を及ぼすことが考えられる。染色原理・工程をよく理解したうえで標本作製にあたりたい。

今回の精度管理が、各施設の染色を見直すきっかけとなれば幸いである。



写真 1 評価 A (ベンチマーク)



写真 2 評価 A (ベンチマーク)

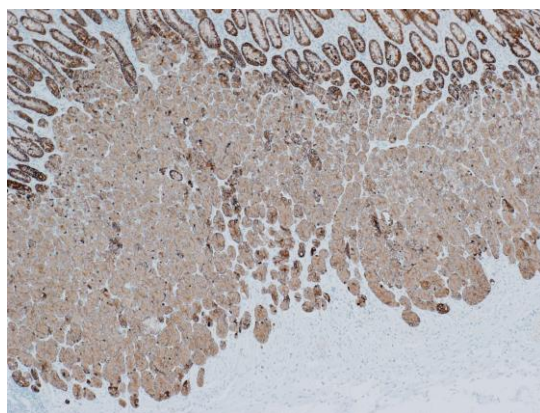


写真 3 評価 A (ベンチマーク)



写真 4 評価 A (ヒストステイナー)

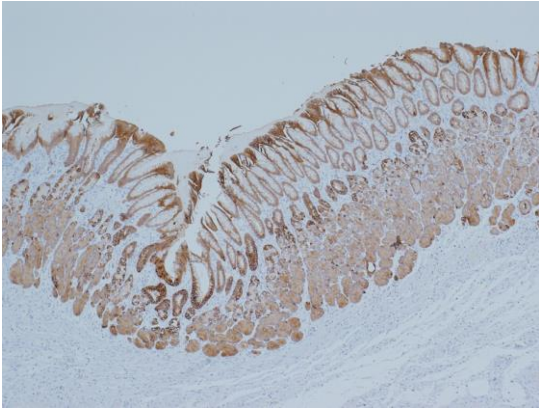


写真5 評価A (ヒストステイナー)

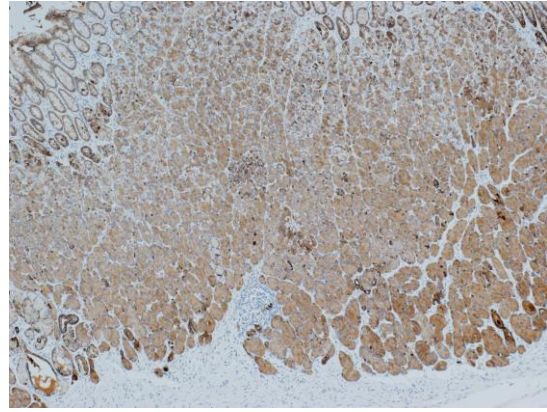


写真9 評価A (BOND-MAX)

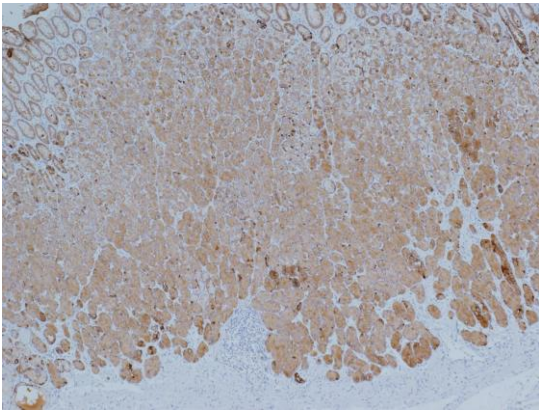


写真6 評価A (ヒストステイナー)

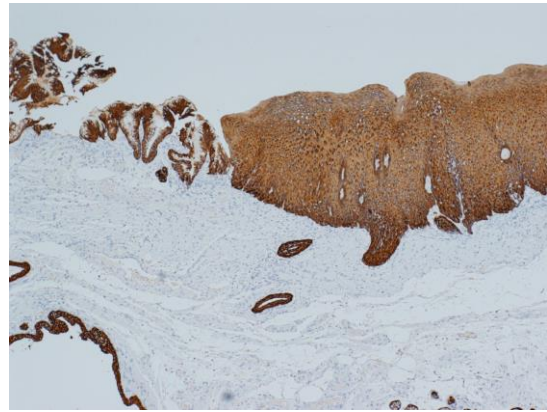


写真10 評価A (用手法)

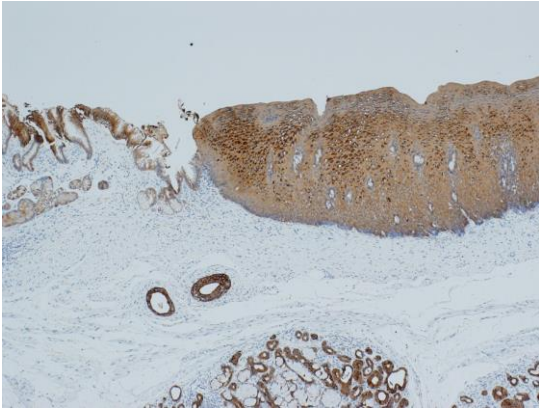


写真7 評価A (BOND-MAX)

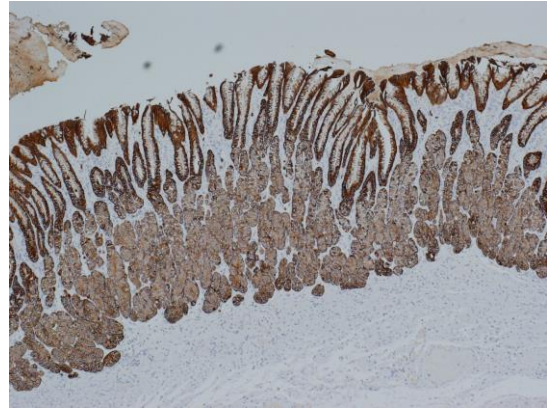


写真11 評価A (用手法)



写真8 評価A (BOND-MAX)

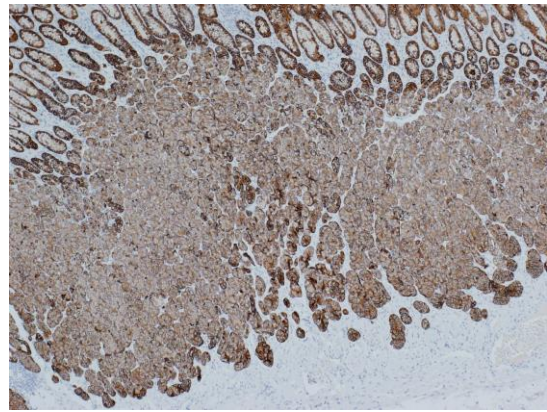


写真12 評価A (用手法)



写真 13 評価 B

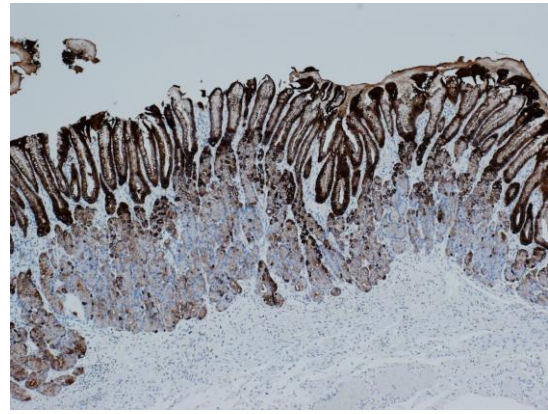


写真 17 評価 C

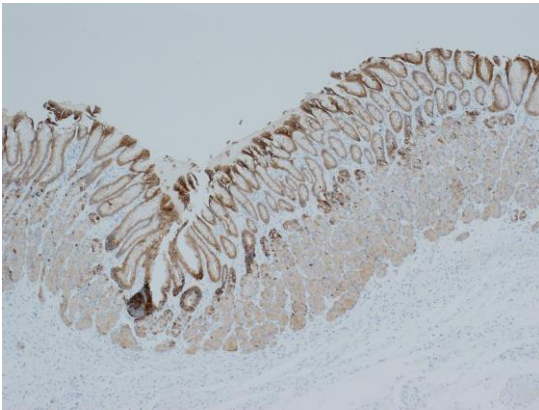


写真 14 評価 B

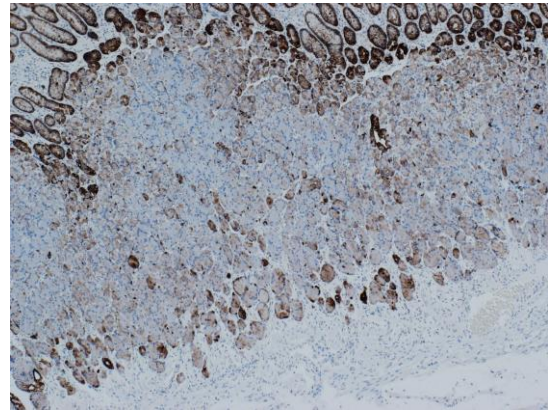


写真 18 評価 C

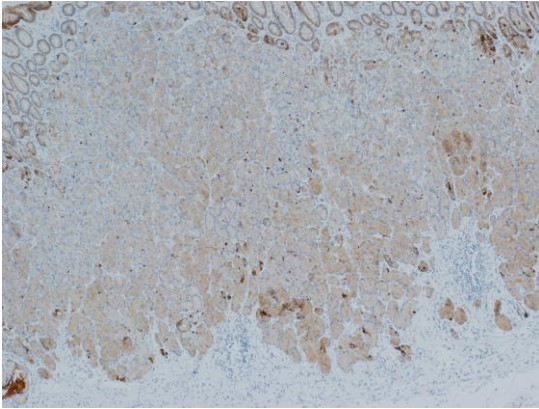


写真 15 評価 B

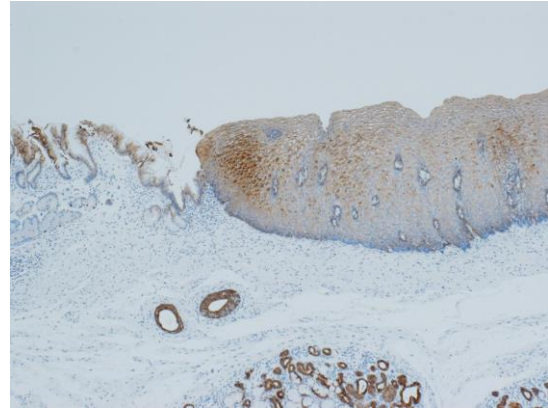


写真 19 評価 D



写真 16 評価 C

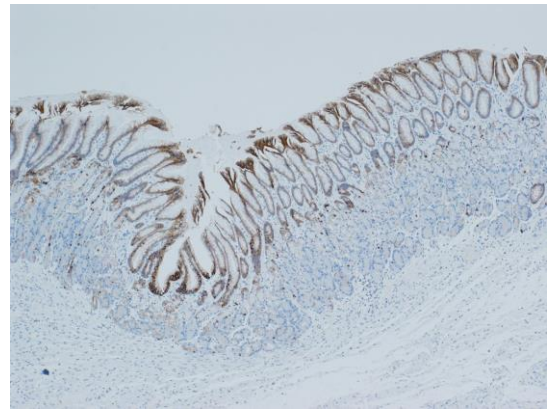


写真 20 評価 D

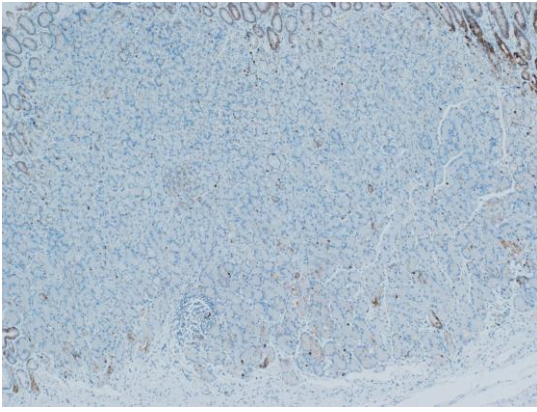


写真 21 評価 D

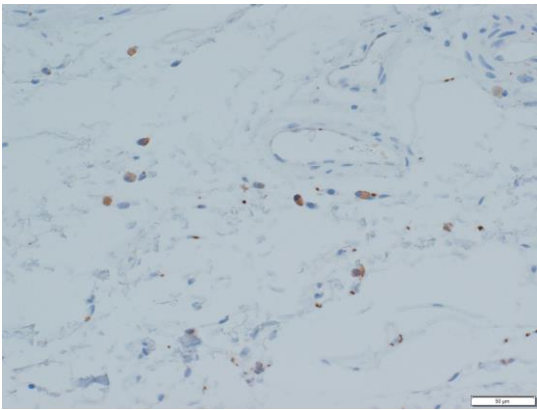


写真 22 マスト細胞の非特異反応

HE 染色担当：

諏訪中央病院 検査科 清水 陽平

免疫染色担当：

長野市民病院 臨床検査科 山口 真愛

病理検査精度管理責任者：

社会医療法人 中信勤労者医療協会

松本協立病院 検査科 仲田 梨恵