

病 理 検 査

⑬病理組織

⑭免疫組織化学染色

⑮細胞診

⑬病理組織(PAS 反応)

【はじめに】

PAS 反応 (Periodic Acid Schiff reaction) は、糖質を過ヨウ素酸で酸化して生じたアルデヒド基をシッフ (Schiff) 試薬で赤紫色に呈色する反応で、多糖類を証明するうえで代表的な染色方法である。

過ヨウ素酸は、糖質の近接水酸基 ($-\text{CHOH}-\text{CHOH}-$) の他、アミノアルコール基 ($-\text{CHOH}-\text{CHNH}-$) あるいはその酸化物 ($-\text{CHOH}-\text{CO}-$) などの炭素鎖 ($\text{C}-\text{C}$) 結合や不飽和脂肪酸の二重結合 ($-\text{CH}=\text{CH}-$) を開裂してジアルデヒドを生成する。しかし、糖質以外の近接水酸基は、通常の PAS 反応の条件下では酸化されることなく PAS 反応は陰性である。また、プロテオグリカンの構成成分であるウロン酸も近接水酸基を有するが、通常の酸化時間では酸化されることなく、PAS 反応は陰性となる。

また、PAS 反応は多糖類を証明するだけでなく、真菌やアメーバなどの感染症の診断、さらには腎糸球体病変を観察する際にも重要である。

【試料および方法】

材料は 10% 中性緩衝ホルマリン液にて固定した肺で、 $4\sim 5\mu\text{m}$ に薄切した未染色標本を参加施設に送付し、日常実施しているプロトコールにて PAS 反応を実施していただいた。

また、染色工程により染色結果に差異が生じる可能性があるため、アンケート形式の報告書を Web 上で公開し、各施設で現在行っている工程の入力もお願いした。

【参加施設数】

今回のサーベイには 45 施設に参加していただいた。

【解析方法】

下記の事項について評価し、減点法で判定した。

1. 真菌が明瞭に染色されているか
2. 菌糸内の薄い隔壁を明瞭に観察できるか
3. 核染色とのバランス

兵臨技 病理・細胞検査研究班 解析委員 (8 人) で慎重に評価を行い、病理医の立場から、伊藤 智雄 先生 (神戸大学医学部附属病院 病理部) にご確認いただいた。

【評価基準】

評価は、『A-a: 満足すべき標本』、『A-b: 診断上支障のない標本』、『B: 診断上支障はないが、改善が必要な標本』、『C: 診断上支障をきたす標本』とした。基準は以下の通りである。

A-a 評価 : 「満足すべき標本」

真菌が明瞭に染色され、菌糸内の隔壁が明瞭に観察できる。コントラストが良く、共染をほとんど認めない。

A-b 評価：「診断上支障のない標本」

真菌が明瞭に染色され、菌糸内の隔壁が明瞭に観察できるが、軽度のコントラスト不良・共染を認める。あるいは、真菌の染色性がやや弱い。

B 評価：「診断上支障はないが、改善が必要な標本」

真菌は明瞭に染色されているが、菌糸内の隔壁が不明瞭、あるいはコントラスト不良、共染が強い。または、真菌の染色性が弱い。

C 評価：「診断上支障をきたす標本」

真菌が染色されていない。

【解析結果】

〔染色についてのアンケート集計〕

申し込み施設 45 施設に対し、アンケート回収率は 45 施設(100%)であった。

集計結果は別表に示すとおりである。

〔染色の評価結果〕

参加施設の評価結果を表 1 に示す。

- ・『A-a：満足すべき標本』と判定された施設は 34 施設(75.6%)であった。
- ・『A-b：診断上支障のない標本』と判定された施設は 9 施設(20.0%)であった。
- ・『B：診断上支障はないが、改善が必要な標本』と判定された施設は 2 施設(4.4%)であった。
- ・『C：診断上支障をきたす標本』と判定された施設は 0 施設(0%)であった。

表 1 病理組織(PAS 反応)評価結果

判定	A: 診断上支障のない標本		B: 診断上支障はないが、 改善が必要な標本	C: 診断上支障をきたす標本
	a	b		
施設数 (%)	34 (75.6)	9 (20.0)	2 (4.4)	0 (0)

【参加施設評価一覧】

参加施設の評価一覧を表 2 に示す。

表 2 病理組織(PAS 反応)評価一覧

施設番号	PAS 反応評価			
	A-a	A-b	B	C
9270069	○			
9280001	○			
9280002	○			
9280003	○			

9280010		○		
9280012	○			
9280020		○		
9280033	○			
9280035	○			
9280038	○			
9280047	○			
9280051	○			
9280059	○			
9280060	○			
9280083	○			
9280091	○			
9280092	○			
9280099	○			
9280100	○			
9280115		○		
9280117	○			
9280124	○			
9280125	○			
9280130	○			
9280135	○			
9280140		○		
9280143	○			
9280146		○		
9280148	○			
9280149		○		
9280153	○			
9280160	○			
9280164	○			
9280169	○			
9280187	○			
9280191	○			
9280209			○	
9280237	○			
9280280	○			
9280322			○	
9280390	○			

9780014		○		
9780032		○		
9780060		○		
9780066	○			

【講評およびまとめ】

令和5年度の病理組織サーベイでは、PAS反応をテーマとして評価を行った。

PAS反応の染色枚数は24施設がひと月に0～5枚であり、平均的に実施数が少ない項目と考えられる。

薄切厚は3～4 μ mが43施設と最も多かった。今回は研究班で薄切した標本を送付し、染色を実施していただいたため、薄切厚が原因となる染色不良はみられなかったが、1～2 μ mで薄切している施設や5～6 μ mで薄切している施設があった。これは真菌の証明を目的とした場合の厚みかどうかは判断できないが、薄い切片だと真菌の染色性に影響がでることもあるため、染色性に疑問があれば今回のアンケート結果を参考にさせていただきたい。切片が薄いと染色性が悪く、切片が厚いと共染が生じやすい傾向にあるため、染色の標準化において薄切厚は非常に重要な要素であると考えるので、こちらも同様に染色性に疑問があれば今回のアンケート結果を参考にさせていただきたい。

染色方法は用手法と自動特殊染色装置(ペンタナ ベンチマーク SS)に分けられた。ベンチマーク SSを使用している施設は5施設(11.1%)であるが、PAS反応に関しては用手法と比較して明らかな菌体の染色性の差は認められなかった。

酸化については1%過ヨウ素酸を用いている施設が27施設(60.0%)と最も多く、0.5%過ヨウ素酸が12施設(26.7%)であった。酸化が短過ぎたり、長過ぎたりすると菌体の染色性が低下すると言われているが、何れの濃度および酸化時間でも菌体の染色性に有意な差は認めず、今回のサーベイでは酸化工程の違いが染色性に影響を与えているかどうかの判断は困難であった。

シッフ(Schiff)反応についてはシッフ試薬を使用している施設が34施設(75.6%)と最も多く、コールドシッフを使用している施設が6施設(13.3%)であった。一般にコールドシッフでは腎糸球体基底膜を明瞭に染色でき、腎生検の染色には有用と考えられているが、真菌や粘液などの染色では両者の違いは無いとされており、今回のサーベイでも両者の明確な違いは確認することができなかった。

分別については亜硫酸水を使用している施設が36施設(80.0%)と最も多く、亜硫酸ナトリウムやピロ亜硫酸ナトリウム、メタ重亜硫酸ナトリウムを使用している施設もあった。分別工程は非特異反応や共染を防ぐために重要な工程と考えるが、今回のサーベイではいずれの試薬を使用しても有意な差は認めなかった。濃度や時間についての詳細は「PAS反応についてのアンケート結果」を参照いただきたい。

日常業務の中で染色条件の見直しや少しの工夫により、より良い方法を見出すことが現状である。しかし、今回テーマとしたPAS反応は単純な工程であるが故に基本とされる染色工程を遵守することが重要と考える。

今回A-a評価であった施設の染色プロトコール、および今回提出していただいた病理組織標本写真を評価別に掲載しているので、参考にいただければ幸いである。

【結語】

PAS 反応の精度管理における結果は、すべての施設が B 評価以上であり、『A-a: 満足すべき標本』および『A-b: 診断上支障のない標本』と判定された施設は 45 施設中、43 施設(95.6%)という良好な結果が得られた。

我々病理・細胞検査研究班は、精度管理および研修会などを通じて、兵臨技に所属する各施設の病理技術の向上および病理組織検査法標準化の推進に貢献できるよう努めていきたいと考える。

最後に職務ご多忙にもかかわらず、精度管理にご参加下さいました各施設の皆様に御礼申し上げます。

(文責: 病理・細胞検査研究班)

PAS 反応についてのアンケート結果（総数 45）

1. 貴施設では一ヶ月何枚位、PAS 反応を実施していますか？（回答 45 施設）

染色枚数	施設数	%
0～5 枚	24	53.3
6～10 枚	8	17.8
11～50 枚	12	26.7
51～100 枚	1	2.2

2. 何 μm で薄切していますか？（回答 45 施設）

薄切厚	施設数	%
1～2 μm	1	2.2
3～4 μm	43	95.6
5～6 μm	1	2.2
7 μm 以上	0	0

3. 今回貴施設で行った方法を具体的に記入して下さい。

【酸化】

（用手染色：回答 40 施設*）

*用手法の試薬を用いて自動染色装置にて染色している 2 施設含む

酸化		施設数	%	
0.5%過ヨウ素酸	7 分	1	2.5	
	8 分	1	2.5	
	10 分	7	17.5	
	15 分	3	7.5	
1%過ヨウ素酸	10 分	24	60.0	
	15 分	3	7.5	
過ヨウ素酸(濃度未回答)		10 分	1	2.5

（全自動染色：回答 2 施設）

酸化		施設数	%
1% 過ヨウ素酸液	4 分	2	100

〔過ヨウ素酸水溶液の調製方法〕（代表的なものから抜粋）

過ヨウ素酸 1g を蒸留水 100mL に溶解

【シッフ反応】

(用手染色 : 回答 40 施設*)

*用手法の試薬を用いて自動染色装置にて染色している 2 施設含む

シッフ反応		施設数	%
シッフ	10 分	5	12.5
	13 分	1	2.5
	15 分	11	27.5
	20 分	9	22.5
	25 分	2	5.0
	30 分 (RT)	3	7.5
	30 分 (37°C)	1	2.5
	40 分	2	5.0
コールドシッフ	15 分	4	10.0
	20 分	1	2.5
	45 分	1	2.5

(全自動染色 : 回答 5 施設)

PAS SCHIFF		施設数	%
45°C	16 分	1	20
45°C	20 分	2	40
回答無	20 分	2	40

【分別】

(用手染色：回答 40 施設*)

*用手法の試薬を用いて自動染色装置にて染色している 2 施設含む

分別			施設数	%
亜硫酸水(濃度未回答)	1 槽	3 分	1	2.5
	2 槽	各 2 分	1	2.5
		各 3 分	2	5.0
		各 4 分	1	2.5
		5 分	2	5.0
	3 槽	各 1 分	1	2.5
		各 2 分	6	15.0
		各 3 分	18	45.0
		各 5 分	1	2.5
		10 分、5 分	1	2.5
	4 槽	各 2～3 分	1	2.5
	3 回	未回答	1	2.5
亜硫酸ナトリウム水溶液(2%)	3 槽	各 2 分	1	2.5
ピロ亜硫酸ナトリウム水溶液(0.5%)	3 槽	10 分	1	2.5
ピロ亜硫酸ナトリウム水溶液(1%)	2 槽	各 5 分	1	2.5
メタ重亜硫酸ナトリウム水溶液(0.5%)	3 槽	各 2 分	1	2.5

(全自動染色：回答 2 施設)

分別		施設数	%
亜硫酸水	2 回	1	50
1%亜硫酸水素ナトリウム水溶液	未回答	1	50

〔亜硫酸水の調製方法〕(代表的なものから抜粋)

10%亜硫酸水素ナトリウム 12mL、1N-HCl 10mL、蒸留水 200mL を混合

【洗浄】

(用手染色：回答 40 施設*)

*用手法の試薬を用いて自動染色装置にて染色している 2 施設含む

洗浄		施設数	%
流水水洗	1 分	1	2.5
	2 分	2	5.0
	3 分	5	12.5
	5 分	22	55.0
	7 分	1	2.5
	10 分	3	7.5
	20 分	1	2.5
	未回答	5	12.5

(全自動染色：回答 2 施設)

洗浄		施設数	%
未回答	2 回	1	50
BKM SS 専用 Wash II	未回答	1	50

【核染色】

(用手染色：回答 40 施設*)

*用手法の試薬を用いて自動染色装置にて染色している 2 施設含む

核染色		施設数	%
ヘマトキシリン	1 分	2	5.0
	2 分	8	20.0
	3 分	6	15.0
	4 分	1	2.5
	5 分	2	5.0
	10 分	1	2.5
マイヤーヘマトキシリン	1 分	3	7.5
	2 分	3	7.5
	3 分	6	15.0
	5 分	3	7.5
	10 分	1	2.5
	15 分	1	2.5
	未回答	1	2.5
ギルヘマトキシリン	20 秒	1	2.5
NEW ヘマトキシリン TypeM	4 分	1	2.5

(全自動染色 : 回答 5 施設)

核染色		施設数	%
ヘマトキシリン	8 分	5	100

【洗浄(色だし)】

(用手染色 : 回答 40 施設*)

*用手法の試薬を用いて自動染色装置にて染色している 2 施設含む

洗浄(色だし)		施設数	%
流水水洗	3 分	4	10.0
	4 分	1	2.5
	5 分	16	40.0
	6 分	1	2.5
	7 分	3	7.5
	10 分	5	12.5
	不明	1	2.5
温水	1 分	1	2.5
	2 分	1	2.5
	3 分	1	2.5
	10 分	1	2.5
流水水洗 + 温水	10 分	1	2.5
流水水洗 + 温水	5 分・5 分	1	2.5
流水水洗 + 温水	10 分・5 分	1	2.5
流水水洗 + pH7.6 リン酸緩衝液	5 分・1 分	1	2.5
流水水洗 + 塩酸アルコール	未回答	1	2.5

(全自動染色 : 回答 3 施設)

色だし		施設数	%
流水水洗	5 分	1	2.5
	7 分	1	2.5
BKM SS 専用試薬	未回答	1	2.5
	2 回	1	2.5
未回答	8 分	1	2.5

4. 今回使用した試薬とメーカー名を記入して下さい。

【酸化液】

(用手染色 : 回答 35 施設)

試薬	メーカー	施設数	%
過ヨウ素酸	関東化学	3	8.6
	武藤化学	17	48.6
	シグマアルドリッチ	3	8.6
	富士フィルム和光純薬	10	28.6
	キシダ化学	1	2.8
	片山化学	1	2.8

(全自動染色 : 回答 3 施設)

試薬	メーカー	施設数	%
過ヨウ素酸	ロシュ	3	100

【シッフ試薬】

(用手染色 : 回答 38 施設)

試薬	メーカー	施設数	%
シッフ	武藤化学	22	57.9
	メルク	2	5.3
	シグマアルドリッチ	1	2.6
コールドシッフ	武藤化学	13	34.2

【分別】

(用手染色 : 回答 35 施設)

試薬	メーカー	施設数	%
亜硫酸水(調整済試薬)	武藤化学	11	31.4
	シグマアルドリッチ	1	2.8
亜硫酸水素ナトリウム	石津製薬	1	2.8
	ナカライテスク	1	2.8
	富士フィルム和光純薬	9	25.7
	関東化学	1	2.8
	未回答	4	11.4
亜硫酸ナトリウム	シグマアルドリッチ	1	2.8
	富士フィルム和光純薬	3	8.5

二亜硫酸ナトリウム	富士フィルム和光純薬	1	2.8
メタ重亜硫酸ナトリウム	富士フィルム和光純薬	1	2.8
	未回答	1	2.8

(全自動染色 : 回答 3 施設)

試薬	メーカー	施設数	%
PAS NEUTRALIZER	ロシュ	3	100

【核染色】

(用手染色 : 回答 39 施設)

試薬	メーカー	施設数	%
マイヤーヘマトキシリン	武藤化学	3	7.7
マイヤーヘマトキシリン 1.5 倍	武藤化学	9	23.1
マイヤーヘマトキシリン 2 倍	武藤化学	1	2.6
マイヤーヘマトキシリン	林純薬	1	2.6
	富士フィルム和光純薬	1	2.6
	メルク	2	5.1
	未回答	1	2.6
ヘマトキシリン	武藤化学	1	2.6
	関東化学	1	2.6
ヘマトキシリン 3G	サクラ	7	17.9
NEW ヘマトキシリン液 TypeM	武藤化学	8	20.5
カラッチヘマトキシリン	武藤化学	1	2.6
ギルヘマトキシリン 5	武藤化学	1	2.6

(全自動染色 : 回答 3 施設)

試薬	メーカー	施設数	%
PAS HEMATOXYLIN	ロシュ	3	100

《A-a 評価プロトコール(用手法)》

* 脱パラフィン、脱水および透徹工程に関しては記載なし

① 酸化	1%過ヨウ素酸 10 分
② 洗浄	流水水洗 5 分
③ シッフ反応	シッフ試薬 20 分
④ 分別	亜硫酸水 3 槽 10 分、5 分、5 分
⑤ 洗浄	流水水洗
⑥ 核染色	マイヤーヘマトキシリン 15 分
⑦ 洗浄(色だし)	流水水洗 5 分

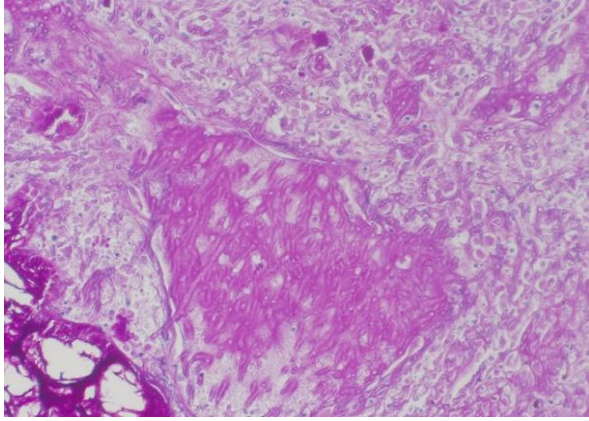
《A-a プロトコール(自動染色装置使用)》

* 染色装置での染色のため、染色工程途中の水洗に関して記載なし

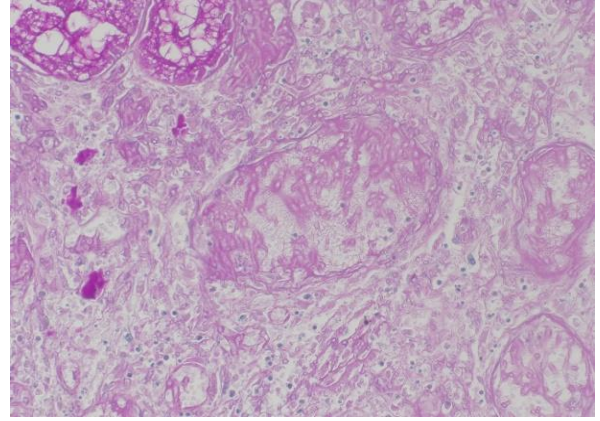
* 脱パラフィン、脱水および透徹工程に関しては記載なし

① 酸化	1%過ヨウ素酸 4 分
② 洗浄	
③ シッフ反応	PAS SCHIFF 45°C 20 分
④ 分別	亜硫酸水 2 回
⑤ 洗浄	
⑥ 核染色	ヘマトキシリン 8 分
⑦ 洗浄(色だし)	BKM SS 専用 Wash II 2 回

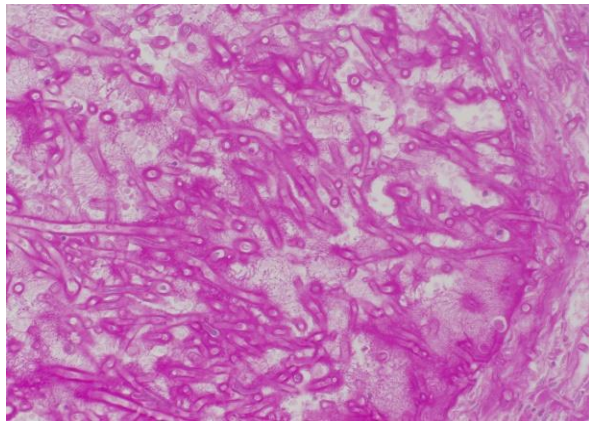
病理検査サーベイ：PAS反応



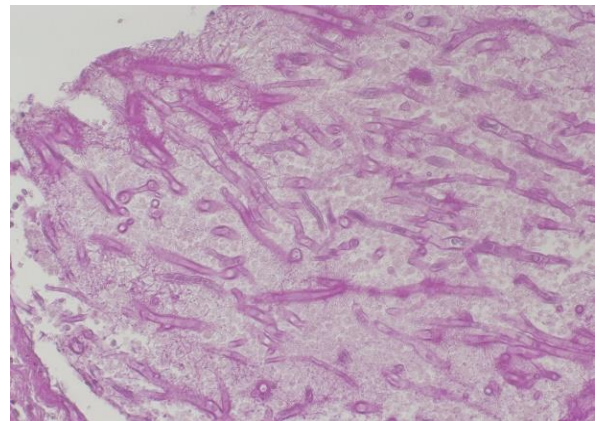
A-a 評価：シッフ試薬使用（用手法）



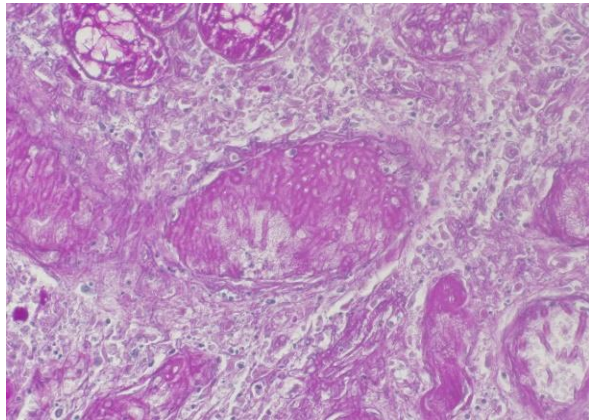
A-a 評価：コールドシッフ試薬使用（用手法）



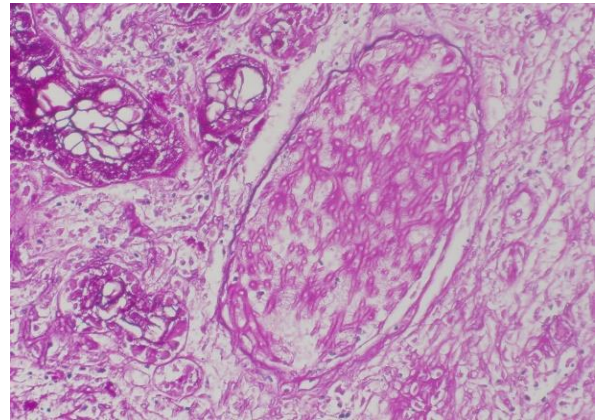
A-a 評価：自動染色装置



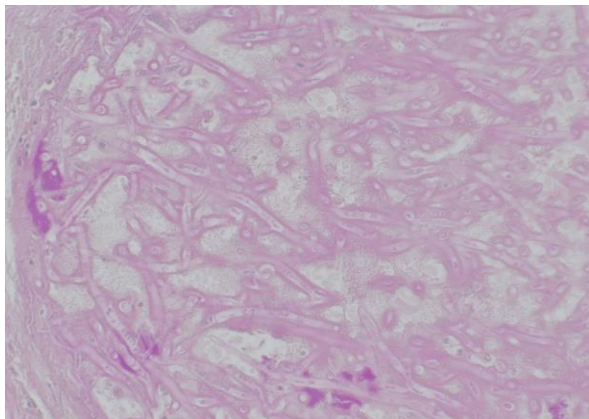
A-b 評価：シッフ試薬使用（用手法）
コントラストやや不良



A-b 評価：コールドシッフ試薬使用（用手法）
コントラストやや不良



A-b 評価：自動染色装置
赤が強く、コントラストやや不良



B 評価：シッフ試薬使用（用手法）
菌体および核の染まりが弱く、コントラストも悪い

⑭免疫組織化学染色（CD20）

【はじめに】

CD分類とは、ヒト白血球を主としたさまざまな細胞表面に存在する表面抗原に結合するモノクローナル抗体の国際分類である。CDとはcluster of differentiation の頭文字で、訳すと「分化抗原群」であり、白血球分化に関わる抗原分子に対するモノクローナル抗体をクラスター解析（群解析）で分類したことから名付けられた。白血球やその他の細胞は、細胞表面に糖タンパクなどでできたさまざまな分子を発現しており、この分子の違いを見分けることで細かい細胞の違いを識別することができる。現在では血小板、赤血球、血管内皮細胞などの分化抗原にも拡大されるとともに、細胞内の抗原にも適用されはじめています。

CD20抗原は、分子量 33、35、37kDa の3つのアイソフォームの膜貫通型糖鎖不含タンパクで、全てB細胞に存在し、プレB細胞と成熟したB細胞に発現するが、前駆B細胞や成熟した形質細胞には発現しない。また、CD20抗原はB細胞由来のリンパ腫や白血病などの腫瘍細胞や炎症や免疫関連疾患に関与するB細胞に発現しているため、リンパ腫、白血病、自己免疫疾患などの治療標的にもなっている。

CD20は、B細胞性リンパ腫の診断には最も基本的な抗原である。正常であればBリンパ腫は濾胞を形成する傾向にあるため結節性の集簇を示し、その間の領域には密ではなく散在性に陽性細胞が分布する。正常のリンパ節において、濾胞間には immunoblasts が散在する。Immunoblasts は大型の細胞で、CD20染色では濃淡（強陽性、弱陽性、細胞膜の一部のみ弱陽性などが混在）のある heterogeneous な染色を示す。一方、diffuse large B-cell lymphoma やT-cell rich B-cell lymphoma では一般的に単一の強陽性を示す。よって、大型細胞におけるCD20の濃淡のある染色性は、腫瘍細胞ではなく良性細胞であるという一つの指標として捉えることができる。しかしながら、Hodgkin lymphomaのHodgkin細胞やRS細胞も時に不均一な染色性を示す場合があるので、注意が必要である。

（一般社団法人ひょうご病理ネットワーク いむ一の「CD20」の項を参照）

分子標的薬（リツキシマブ）

B細胞表面のCD20抗原に結合し補体依存性細胞障害作用（Complement-Dependent Cytotoxicity : CDC）や抗体依存性細胞介在性細胞障害作用（Antibody Dependent Cellular Cytotoxicity : ADCC）によりヒト由来のCD20陽性細胞を破壊（溶解）することで抗腫瘍効果をあらわす。B細胞およびB細胞で作られる抗体に関連する多くの病態に対して有用とされる。CD20抗原はリンパ腫細胞以外のB細胞でも存在し、B細胞の機能異常や（リンパ球）T細胞とB細胞の情報伝達異常などでおこる（難治性）ネフローゼ症候群や、B細胞の活性化などによって起こるとされる多発血管炎性肉芽腫症などに対しても治療効果が期待できる。そのほか、ABO血液型不適合の腎移植や肝移植における抗体関連型拒絶反応を抑える目的として使われる場合もある。また2017年には、特発性血小板減少性紫斑病（ITP）の治療薬としても承認されている。

（抗CD20モノクローナル抗体リツキシマブ（遺伝子組換え）製剤 リツキシマブ点滴静注 100mg 添付書類参照）

分子標的薬（オビムツマブ）

B細胞の表面に発現しているCD20抗原を目印として選択的に結合するCD20抗体製剤で、抗体依存性細胞障害作用（ADCC）活性や抗体依存性細胞貪食（Antibody-Dependent Cellular Phagocytosis : ADCP）活性など

により抗腫瘍効果をあらわすとされる。なお、CD20 抗原に対する抗体製剤としてはリツキシマブ（主な商品名：リツキサン）などがあるが、本剤にはリツキシマブを含む前治療に治療抵抗性の濾胞性リンパ腫に対する有用性なども考えられている。

（抗悪性腫瘍剤 ヒト化抗 CD20 モノクローナル抗体 オビムツズマブ（遺伝子組換え）注 ガザイバ点滴静注 1000mg 添付書類参照）

分子標的薬とは

分子量の違いにより分類すると、分子量が大きな蛋白分子であるモノクローナル抗体型（mono clonal antibodies, 抗体薬）と低分子量で構造式が明確な小分子化学物質型（small molecules, 小分子薬）とに分類され、前者は細胞外分子標的薬としての高分子阻害薬であり、後者は細胞内分子標的薬としての低分子阻害薬である。薬剤標的分子としては、細胞外では液性因子で細胞膜上にある受容体に特異的に結合するリガンド分子、あるいは可溶性分子、細胞膜上にあるリガンドが特異的に結合する受容体（細胞外側）、同じく細胞膜上にある膜結合型分子や分化抗原などがあげられる。細胞内では、受容体の細胞内に位置するチロシンキナーゼ活性部位、種々のシグナル伝達分子やプロテアソームなどである。通常、分子標的薬はこれらの標的分子により分類される。また小分子薬の作用機序は、直接標的分子に作用してその機能を阻害することによるものであるが、モノクローナル抗体である高分子薬は、作用点は異なるが小分子薬と同様な作用を有している。しかし、そのほかにADCC やCDC が薬効に関与しているものもある。分子標的薬は似たような名称が意外と多いが、識別する上で語尾の「ニブ」か「マブ」が大きな違いとなる。

	抗体薬	小分子薬
分子の大きさ	大きい(高分子型)	小さい(小分子型)
標的の場所	細胞外：リガンド 膜受容体、膜上分化抗原	細胞内：シグナル伝達分子 プロテアーゼ分子 核内分子
名称	～mab(～マブ) マウス抗体：～omab(～モマブ) キメラ抗体：～ximab(～シマブ) ヒト化抗体：～zumab(～ズマブ) ヒト抗体：～umab(～ムマブ) など	～nib(～ニブ)

1. ADCC：標的分子への結合後、モノクローナル抗体の定常部領域（Fc 領域）が、Fc レセプターを発現しているエフェクター細胞（ナチュラルキラー細胞やマクロファージ）と結合する。この結合を介してエフェクター細胞が標的分子発現細胞を破壊する。
2. CDC：標的分子への結合後、モノクローナル抗体の定常部領域（Fc 領域）に補体成分 C1q が付着し、他の補体成分を活性化させる。この結果、補体の最終複合体である膜侵襲複合体が標的分子発現細胞の膜上に挿入され、細胞溶解を引き起こす。

（石川和宏：分子標的薬とは：総論，日腎会誌 2012;54(5):561-573.）

【試料および方法】

今回使用した試料は扁桃で、未染色標本を各施設に2枚配布し、染色を実施していただいた。また、染色工程により染色結果に差異が生じる可能性があるため、アンケート形式の報告書をウェブ上で公開し、各施設で現在行っている工程の入力もお願いした。

なお、免疫染色試薬販売メーカーであるロシュ・ダイアグノスティックス株式会社（以下、ロシュ社）、ライカマイクロシステムズ株式会社（以下、ライカ社）、ニチレイバイオサイエンス株式会社（以下、ニチレイ社）、アジレント・テクノロジー株式会社（以下、アジレント社）の4社にも同一検体を配布し、染色を実施していただき、その染色性を評価の基準とした。本抗体はいずれの一次抗体メーカーにおいてもクローンはL26であった（以下、クローン名は割愛する）。

【参加施設数】

今回のCD20染色のサーベイには39施設に参加していただいた。

【解析方法】

下記の事項について評価し、減点法で判定した。

- ① 目的とする細胞、部位が染色されているか。
- ② 染色ムラや非特異反応がないか。
- ③ カウンター染色とのコントラストが良好であるか。

兵臨技 病理・細胞検査研究班 解析委員(8人)で慎重に評価を行い、病理医の立場から、伊藤 智雄 先生（神戸大学医学部附属病院 病理部）にご確認いただいた。

【評価基準】

評価は、『A：診断上支障のない標本』、『B：診断上支障はないが、改善が必要な標本』、『C：診断上支障をきたす標本』、とした。基準は以下のとおりである。

A 評価：「診断上支障のない標本」

目的とする細胞・部位が適切に染色され、染色ムラや非特異反応などを認めない。カウンター染色とのコントラストが良好である。

B 評価：「診断上支障はないが、改善が必要な標本」

目的とする細胞・部位が染色されており、診断に大きな影響はないが、染色性の強弱、染色ムラや非特異反応を認める。カウンター染色とのコントラストに軽度の問題を認める。

C 評価：「診断上支障をきたす標本」

目的とする細胞・部位が染色されていない。または診断に影響のある染色ムラや非特異反応を認める。カウンター染色とのコントラストに問題を認める。

【解析結果】

〔染色についてのアンケート集計〕

申し込み施設39施設に対し、アンケート回収施設39施設(100%)であった。

集計結果は別表に示すとおりである。

〔染色の評価結果〕

参加施設の評価結果を表1に示す。

- ・『A：診断上支障のない標本』と判定された施設は37施設(94.9%)であった。
- ・『B：診断上支障はないが、改善が必要な標本』と判定された施設は2施設(5.1%)であった。
- ・『C：診断上支障をきたす標本』と判定された施設はなかった。

表1 免疫染色（CD20）評価結果

判定	A: 診断上支障のない標本	B: 診断上支障はないが、 改善が必要な標本	C: 診断上支障をきたす標本
標本数	37	2	0
(%)	94.9 %	5.1 %	0 %

【参加施設評価一覧】

参加施設の評価一覧を表2に示す。

表2 免疫染色（CD20）評価一覧

施設番号	評価	寸評
9270069	A	
9280001	A	
9280002	A	
9280003	A	
9280033	A	
9280035	A	
9280038	A	
9280051	B	染色性が弱い
9280059	A	
9280060	A	背景に薄くエオジン色素がみられる
9280083	A	
9280091	A	
9280092	A	背景に薄くエオジン色素がみられる
9280099	A	
9280100	A	
9280115	A	
9280117	A	
9280124	A	全周性陽性像を示さない細胞が少数あり
9280125	A	
9280130	A	
9280135	A	
9280140	A	
9280143	A	ヘマトキシリン染色がやや薄い
9280146	A	
9280148	A	
9280149	A	
9280164	A	ヘマトキシリン染色がやや濃い
9280169	A	
9280187	A	
9280209	A	
9280237	A	
9280280	A	
9280322	A	
9280390	A	
9280417	B	染色性が弱い
9780014	A	
9780032	A	全周性陽性像を示さない細胞が少数あり
9780060	A	
9780066	A	

【講評およびまとめ】

令和5年度の免疫組織化学染色サーベイでは、CD20をテーマとして評価を行った。

染色強度や陽性率、染色ムラ、非特異的反応、切片剥離などについて一次抗体メーカーの染色性と比較し、遜色のない染色を「A」、染色強度が弱すぎるまたは強すぎる、切片の剥離や細胞形態の異常を認めた染色を「B」、陽性所見を認めない、または非特異反応が強すぎるなど診断に影響がある染色を「C」として評価した。今回の評価結果は「A」が37施設、「B」が2施設、「C」が0施設という結果であった。

「B」評価であった2施設は、いずれも一次抗体メーカーと比較して染色性が弱かった。1施設はライカ社の自動免疫染色装置で、ニチレイ社の抗体を使用して染色していた。また、推奨プロトコルでの抗原賦活化処理はpH9.0での加熱処理であったが、抗原賦活化処理を行わないプロトコルで染色を行っていた。もう1施設は用手法で、ニチレイ社の抗体を使用して染色していた。抗原賦活化処理はニチレイ社の抗原賦活化液pH 9.0を使用し、マイクロウェーブ（以下、MW）で行われていた。いずれの施設も抗原賦活化処理の不足による結果と考えられる。

MWIは抗原賦活化の加熱方法として周知されており、過去によく利用されていたが、現在では加熱ムラや吹きこぼれの可能性があること、処理枚数に制限があること、処理枚数に応じた照射条件の調整が必要であること、などの難点があることから利用施設は減少傾向にある。なお、電子レンジ処理の効果は、MWそのものより照射によって生じる熱によると考えられている。他に加熱方法としては、オートクレーブ、圧力鍋、温浴槽、ホットプレート、電気ポットなどがある。オートクレーブ法や圧力鍋法は加熱効果が高いとされているが、オートクレーブ法は時間がかかるうえ、組織・細胞の形態への損害が生じやすいなどの欠点があるため、圧力鍋法が推奨される。（鴨志田伸吾：免疫染色 至適条件決定法，学際企画 参照）

CD20は病理診断だけではなく、分子標的薬の為のコンパニオン診断としても使用されるため、染色性の強度が診断や治療に影響する。よって、染色性に関しては必ず病理医に相談する必要がある。また、CD20については体外診断薬であり、原則として各メーカーの推奨プロトコルで染色を実施することが望まれ、改善のためであってもプロトコルの変更は慎重に行わなければならない。今回のサーベイでは、染色装置・染色キットと一次抗体について異なるメーカーの組み合わせで染色している施設が10施設、メーカーの推奨と異なるプロトコルで染色している施設が10施設あった。これらの施設は、いずれも今回のサーベイにおいては診断上支障のない染色性であったが、病理医と相談のうえ、推奨プロトコルへの変更を検討していただければと考える。また、それ以外の「B」評価の施設においても、病理医と相談のうえ、可能な限り染色性の改善に努めていただければと考える。

【結語】

CD20の染色性における精度管理の結果は、参加していただいた39施設すべてが『診断上支障のない標本』という良好な結果が得られた。

我々病理・細胞検査研究班は、今後も、精度管理および研修会などを通じて、兵臨技に所属する各施設の免疫染色の精度向上に貢献できるよう努めていきたいと考える。

最後に職務ご多忙中にもかかわらず、精度管理にご参加下さいました各施設の皆様に御礼申し上げます。

（文責：病理・細胞検査研究班）

CD20 染色方法についての集計

1. 貴施設では1ヶ月何枚位、CD20 染色を実施していますか。

染色枚数	施設数	%
10 枚以下	22	56.4
11～30 枚	12	30.8
31～50 枚	4	10.2
51 枚以上	1	2.6

2. 何 μm で薄切していますか。

厚さ (μm)	施設数	%
2	2	5.2
～3	12	30.8
～4	21	53.8
～5	4	10.2

3. 今回貴施設で行った方法を下記の欄に具体的に記入して下さい。

(1) 染色方法

染色方法	施設数	%
自動染色装置	34	87.2
用手法	5	12.8

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 XT	1	2.9
	ベンチマーク GX	7	20.6
	ベンチマーク ULTRA	13	38.2
ライカ	BOND MAX	7	20.6
	BOND III	5	14.8
ニチレイ	HISTOSTAINER 36A	1	2.9

(2) 使用試薬

【一次抗体(クローン)】

メーカー名	クローン名	自動染色施設数	用手法施設数	合計施設数	%
アジレント	L26	3	1	4	10.2
ロシュ		16	0	16	41.0
ライカ		10	0	10	25.6
ニチレイ		4	4	8	20.6
Cell Marque		1	0	1	2.6

【二次抗体・発色基質】

メーカー名	キット名	自動染色 施設数	用手法 施設数	合計 施設数	%
ロシュ	ultraView DAB ユニバーサルキット	21	0	21	53.8
ライカ	Bond Polymer Refine Detection	12	0	12	30.8
ニチレイ	ヒストファイン シンプルステイン MAX-PO (MULTI)	1	0	1	2.6
ニチレイ	ヒストファイン シンプルステイン MAX-PO (M)	0	4	4	10.2
ニチレイ	ヒストファイン シンプルステイン SAB-PO (M)	0	1	1	2.6

(3) 染色プロトコール

【抗原賦活化】

メーカー名	抗原賦活化	自動染色施設数	用手法 施設数
ロシュ	加熱処理 CC1 buffer (pH 8.5) 60 分 or 64 分	17	0
	加熱処理 CC1 buffer (pH 8.5) 32 分 or 30 分	4	0
ライカ	処理なし	1	0
	加熱処理 ER1 (pH 6.0) 10 分	1	0
	加熱処理 ER1 (pH 6.0) 20 分	3	
	加熱処理 ER2 (pH 9.0) 20 分	7	0
ニチレイ	加熱処理 ヒストファイン抗原賦活化液 pH 9.0	1	5

【一次抗体】

染色法	一次抗体 メーカー	一次抗体 希釈倍率	反応時間	施設数
ロシュ 染色装置	ロシュ	希釈済み	10 分	1
			15 分 or 16 分	15
	アジレント	希釈済み	30 分 or 32 分	3
	ライカ	希釈済み	30 分 or 32 分	1
	ライカ	100 倍	30 分 or 32 分	1
ライカ 染色装置	ライカ	希釈済み	15 分	4
		100 倍	15 分	1
		200 倍	15 分	2
		その他	15 分	1
	ニチレイ	希釈済み	15 分	1
	ニチレイ	4 倍	15 分	1
	ニチレイ	その他	15 分	1
	Cell Marque	800 倍	15 分	1
ニチレイ 染色装置	ニチレイ	希釈済み	30 分	1
用手法	ニチレイ	希釈済み	30 分	3
	ニチレイ		40 分	1
	アジレント	100 倍	30 分	1

【カウンター染色】

染色法	染色液	反応時間	施設数
ロシュ 染色装置	自動染色装置のヘマトキシリン	8 分	7
		12 分	2
		不明	10
	調整済みヘマトキシリン (自動染色装置用を除く)	1 分	1
		不明	1
ライカ 染色装置	自動染色装置のヘマトキシリン	5 分	6
		不明	6
ニチレイ 染色装置	調整済みヘマトキシリン (自動染色装置用を除く)	2 分	1
用手法	自動染色装置のヘマトキシリン	不明	1
	調整済みヘマトキシリン (自動染色装置用を除く)	40 秒	1
		2 分	1
		不明	1
	自家調整ヘマトキシリン	2 分	1

次ページに各施設の染色方法、使用試薬、染色プロトコールおよび今回の評価をまとめた表を示す。一次抗体のクローン、一次抗体の反応温度、二次抗体の反応温度・反応時間などは染色装置や染色キットによってほぼ決まっているため省略した。また、入力漏れがあった部分は空白や記載なしとしている。

【各施設の染色方法、使用試薬、染色プロトコールおよび評価】

[illegible]

施設No	染色方法 (染色装置)	染色キット	抗原賦活化	一次抗体 メーカー	一次抗体希釈倍率	一次抗体反応時間	カウンター染色 反応時間	評価	寸評
ニチレイ 推奨プロトコール	HISTOSTAINER 36A	ヒストフイン クリア MAX- PO(MULTI)・DAB基質キット	抗原賦活液pH9 (ニチレイ)	ニチレイ	希釈済み (そのまま使用)	【ニチレイ】 30分	30秒		
9280143		ヒストフイン クリア MAX- PO(MULTI)・DAB基質キット	抗原賦活液pH9 (ニチレイ)	ニチレイ	希釈済み (そのまま使用)	【ニチレイ】 30分	2分	A	
Leica 推奨プロトコール	Leica BOND	Bond Polymer Refine Detection	BOND Epitope Retrieval Solution 2 [pH9]	ライカ	希釈済み (そのまま使用)	【ライカ】 15分	5分		
9280059	BOND MAX	Bond Polymer Refine Detection	BOND Epitope Retrieval Solution 2 [pH9]	ライカ	希釈済み (そのまま使用)	【ライカ】 15分	5分	A	
9280038	BOND MAX	Bond Polymer Refine Detection	BOND Epitope Retrieval Solution 2 [pH9]	ライカ	希釈済み (そのまま使用)	【ライカ】 15分		A	
9280124	BOND MAX	Bond Polymer Refine Detection	BOND Epitope Retrieval Solution 1 [pH6]	ニチレイ	希釈済み (そのまま使用)	【ライカ】 15分		A	全周性陽性像を示さない細胞が少数あり
9780014	BOND MAX	Bond Polymer Refine Detection	BOND Epitope Retrieval Solution 2 [pH9]	ライカ	希釈済み (そのまま使用)	【ライカ】 15分	5分	A	
9280417	BOND MAX	Bond Polymer Refine Detection		ニチレイ		【ライカ】 15分		B	染色性が低い
9280322	BOND MAX	Bond Polymer Refine Detection	BOND Epitope Retrieval Solution 2 [pH9]	Cell Marque	800倍	【ライカ】 15分	5分	A	
9280169	BOND MAX	Bond Polymer Refine Detection	BOND Epitope Retrieval Solution 2 [pH9]	ライカ	100倍	【ライカ】 15分	5分	A	
9280117	BOND III	Bond Polymer Refine Detection	BOND Epitope Retrieval Solution 2 [pH9]	ライカ	希釈済み (そのまま使用)	【ライカ】 15分	5分	A	
9780032	BOND III	Bond Polymer Refine Detection	BOND Epitope Retrieval Solution 2 [pH9]	ニチレイ	希釈済みを4倍希釈	【ライカ】 15分		A	全周性陽性像を示さない細胞が少数あり
9280091	BOND III	Bond Polymer Refine Detection	BOND Epitope Retrieval Solution 1 [pH6]	ライカ	200倍希釈	【ライカ】 15分		A	
9780060	BOND III	Bond Polymer Refine Detection	BOND Epitope Retrieval Solution 1 [pH6]	ライカ	希釈済み (そのまま使用)	【ライカ】 15分	5分	A	
9280390	BOND III	Bond Polymer Refine Detection	BOND Epitope Retrieval Solution 1 [pH6]	ライカ	200倍希釈	【ライカ】 15分		A	
ニチレイ 推奨プロトコール	用手法	ヒストフイン SAB-PO (MULTI) キット	抗原賦活液pH9 (ニチレイ)	ニチレイ	希釈済み (そのまま使用)	【ニチレイ】 30分	30秒		
9280115		ヒストフイン クリア MAX- PO(M)・DAB基質キット	抗原賦活液pH9 (ニチレイ)	アジレント	100倍希釈	【ニチレイ】 30分		A	
9280051		ヒストフイン クリア MAX- PO(M)・DAB基質キット	抗原賦活液pH9 (ニチレイ)	ニチレイ	希釈済み (そのまま使用)	【ニチレイ】 30分	2分	B	染色性が低い
9280160		ヒストフイン クリア MAX- PO(M)・DAB基質キット	抗原賦活液pH9 (ニチレイ)	ニチレイ	希釈済み (そのまま使用)	【ニチレイ】 30分	1分	A	背景に薄くエロージン色素がみられる
9280143		ヒストフイン クリア MAX- PO(M)・DAB基質キット	抗原賦活液pH9 (ニチレイ)	ニチレイ	希釈済み (そのまま使用)	【ニチレイ】 30分	40秒	A	ヘマトキシリン染色がやや薄い
9280187		ヒストフイン SAB-PO (M) DAB基質キット	抗原賦活液pH9 (ニチレイ)	ニチレイ	希釈済み (そのまま使用)	40分	2分	A	

CD20 染色についてのアンケート結果（総数 39）

1. 固定液

固定液の種類	施設数
10% 中性緩衝ホルマリン	38
20% ホルマリン	1

2. 採取から固定までの時間

時間	施設数
直ちに	32
10 分以内	2
30 分以内	2
1 時間以内	1
不明	2

3. 固定時間

（生検材料）

固定時間	施設数
6 時間以内	1
12 時間以内	6
24 時間以内	23
48 時間以内	7
72 時間以内	2

（手術材料）

固定時間	施設数
6 時間以内	0
12 時間以内	1
24 時間以内	9
48 時間以内	21
72 時間以内	8

4. コントロールの有無

	施設数	自動染色	用手法
あり	31	28	3
なし	8	6	2

コントロールに使用している組織

組織	施設数
リンパ節	7
扁桃	14
虫垂	9
その他	1

5. 染色のコツがあれば記入してください。

- ・未染標本を作製するときに、長時間熱をかけないように注意している。
- ・推奨プロトコル通りに染色する。
- ・自動免疫染色装置における染色では、用手法と異なり、染色途中での切片の剥がれなどを確認することができないため、切片が剥がれず、確実に染色が実施終了できるように、薄切の段階でプレパラートへの貼り付け方法に注意している。
- ・乾燥時間は60℃30分間とし、長時間の乾燥は避ける。

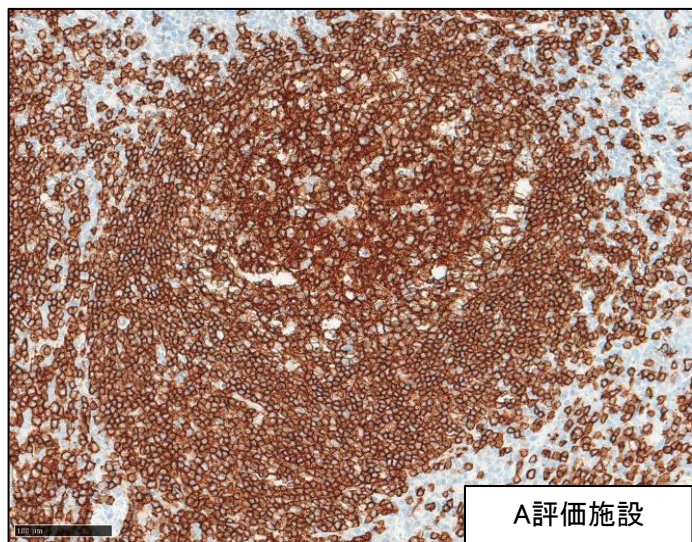
6. 日常業務の免疫染色での悩みなどあればご記入してください。

- ・兵庫県下で、唯一用手法で行っていると聞いている。自動化したいところだがコストが高くなることと特殊染色もあり人員削減にもつながらない所がネックとなっている。
- ・コントロールを標本内にのせているが、コントロールが用意できないものがある。染色枚数が少なくて、使用期限内に使いきれない。
- ・陽性対照の確保が難しい。
- ・コントロールが染まらなくなることもあるが、期限はどのように決めているのか。また、適したコントロールなどをHPで紹介してもらえると助かる。
- ・コントロール標本の確保と管理。
- ・免疫抗体の在庫管理について。日常業務では常時染色することのない抗体の管理について、件数と消費期限との兼ね合いもあり、一部外部委託しているが、やはり院内実施より所要日数がかかってしまうことが難点。
- ・コントロール切片の入手が困難な項目がある。

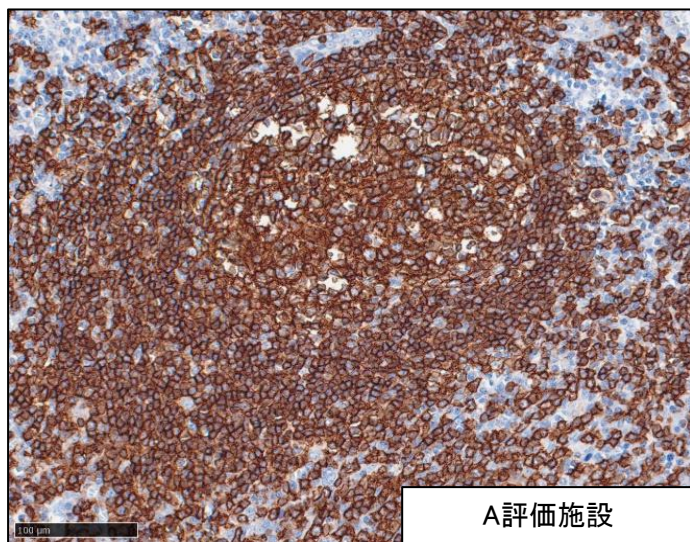
7. 今後、免疫染色サーベイを行ってほしい項目があれば記入してください。

- ・CD10
- ・p53
- ・CD3
- ・CD31

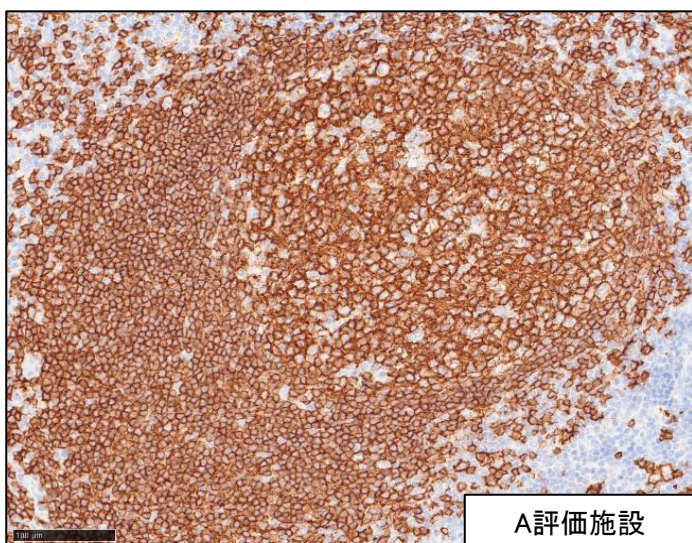
免疫染色サーベイ：CD20



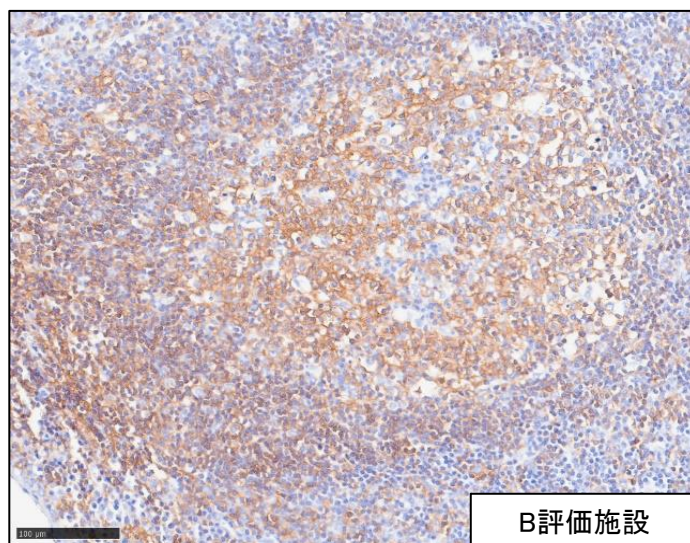
ロシュ社



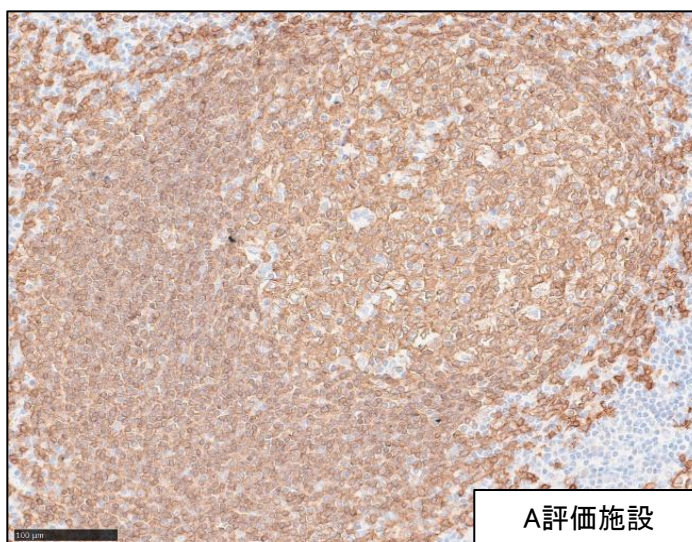
ロシュ社 ヘマトキシリンがやや濃い



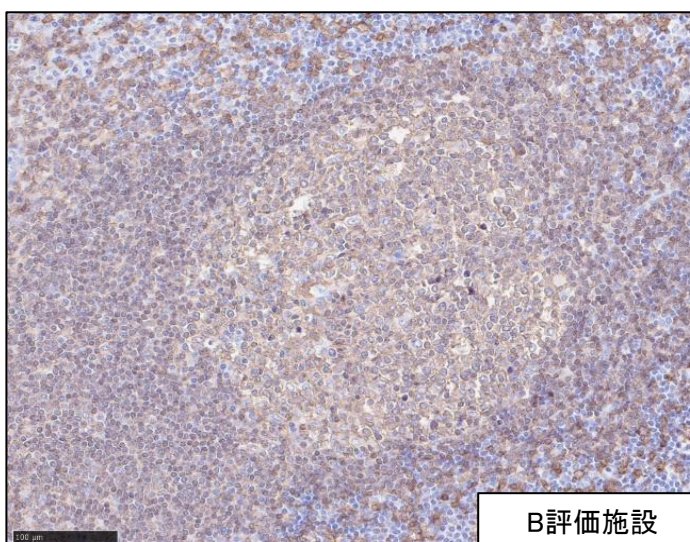
ライカ社



ライカ社 染色性が弱い



ニチレイ社 用手法



ニチレイ社 用手法 染色性が弱い

⑮ 細胞診

【はじめに】

今回の細胞診は例年どおりフォトサーベイを行った。昨年度同様、各設問につき**判定区分**と**推定病変**を設け、解答していただくようにした。また解答状況をよりよく把握するために、分からない理由や細胞所見などを記述する欄を設けた。

【参加施設数】

申し込み 52 施設に対し解答総数 52 施設（100%）であった。

【設問・解析方法について】

今回のフォトサーベイはパパニコロウ染色を用い、設問にある材料、年齢、性別、および臨床所見を参照して解答していただいた。解答は**判定区分**と**推定病変**に分け、**判定区分**では良性、悪性又は非腫瘍、腫瘍の 2 つから 1 つを選択し、子宮頸部においてはベセスダシステムの判定基準を採用した。

推定病変では写真の細胞に最も適当と思われる疾患、あるいは細胞を記述していただくことにした。

さらに、分からないとした理由や細胞所見なども記述していただけるようにした。

また、配点は、各設問において**判定区分** 7 点、**推定病変** 3 点の合計 10 点として、最終的に分かり易いように全問正答を 100 点として換算しなおした。なお、推定病変については誤字等による減点があるため、3 点を「a 判定」、2-1 点を「b 判定」として記載することとする。

【評価基準および成績の概要】

解答総数 52 施設における正答率は判定区分では 99.8%、推定病変では「a 判定」が 93.0%、「b 判定」が 5.3% の計 98.3%、判定区分と推定病変を合わせた総合判定では 98.8%であった。

今回、日臨技フォトサーベイに準ずる許容正答（正しい思考過程に基づき鑑別すべき病変まで考えが及んでいる解答）を設けた。表 1 に設問別正答数および正答率を示した。

判定区分では全問 90%以上と高い正答率を示した。正答率が低かったのは設問 1 の 98.1%であった。

設問 1 では、LSIL と解答した施設があった。その他の設問の正答率は 100%であった。

推定病変では、8 問全てにおいて正答率が 90%以上と高い正答率を示した。

正答率が低かったのは設問 7 で、「a 判定」(84.6%)および「b 判定」(7.7%)の合計が 92.3%で、不正解が 7.7%であった。

設問 1 では、中等度異形成(CIN2)と解答した施設が 1 施設あった。設問 2 では、類内膜腺癌と解答した施設が 11 施設あった。なお、類内膜腺癌は旧取り扱い規約の文言であり、現在は使用されていないため、解答した施設に対しては減点を行っている。設問 4 では、カルチノーマと解答した施設が 1 施設あった。設問 5 では、悪性中皮種と解答された施設が 2 施設、悪性中脾腫と解答された施設が 1 施設あり、いずれも誤字のため減点を行っている。設問 7 では、線維腺腫と解答した施設が 2 施設、葉状腫瘍と解答した施設が 1 施設あった。乳管内乳頭腫または線維腺腫と解答した施設が 1 施設あったが、2 つ解答されているため不正解とした。なお、サーベイ実施の手

引きの「Ⅱサーベイ実施方法及び注意事項」には、「解答の無いもの、2 つ以上解答したもの、記入ミス、などは不正解になりますのでご注意下さい」と記載している。また、乳管内乳頭種と解答された施設が 4 施設あり、誤字のため減点を行っている。設問 8 では、髄膜種と解答した施設が 4 施設あり、誤字のため減点を行っている。また、隋内膜腫と解答した施設が 1 施設あった。

いずれの設問も鑑別については正解と解説を参照していただきたい。

今回、全ての設問において、正答率が 80%以上となり、問題としては適正と判断した。

表 2 に設問別解答数を、表 3 に施設別正答率を示したので参考としていただきたい。

最終的に、判定区分を 7 点、推定病変を 3 点とし、総合評価として 10 点を A 評価、7 から 9 点を B 評価、6 点以下を C 評価とした。

【設問の正解と解説】

設問1 正解：〔判定区分〕 NILM

〔推定病変あるいは細胞〕 萎縮性膣炎

【解説】

多数の好中球を認める炎症性背景に、傍基底型細胞を多数認める。核は軽度の腫大を示すが、類円形で不整は目立たず、クロマチンは微細～細顆粒状で増量や不均一な分布は明らかではない。濃縮核、破碎核を有する細胞やオレンジ G 好染性を示す小型類円形細胞を散見するが、異形成や悪性を疑うほどの異型は明らかではない。年齢も考慮して、萎縮性膣炎と判定可能と考える。

背景が汚く濃縮核や破碎核が目立つ像や錯角化を示す細胞を認める場合は異形成や腫瘍性病変を鑑別に挙げる必要はあるが、それらを疑う異型細胞が明確に存在しているかどうかを慎重に判断する必要がある。

設問2 正解：〔判定区分〕 悪性

〔推定病変あるいは細胞〕 類内膜癌（腺癌）

【解説】

弱拡大にて不規則に増殖した子宮内膜腺が多数認められる。腺管にはほつれもみられ、孤立散在性の細胞もわずかに認められる。強拡大では、集塊辺縁は不整で樹枝状を呈し、細胞集塊の最外層核は突出している。個々の細胞は核形不整、核の大小不同、クロマチンの微細増量を認め、重積性のある集塊を形成している。子宮体癌取り扱い規約第 5 版より、子宮内膜癌 (Endometrial carcinoma) の中の類内膜癌 (Endometrioid carcinoma) である。Grade に関しては写真のみでは判定はできないため G1 も G3 も正解とした。類内膜腺癌は旧規約となるため、最新の規約に対応していただくために減点とした。

設問3 正解：〔判定区分〕 悪性

〔推定病変あるいは細胞〕 小細胞癌

【解説】

弱拡大では壊死物を背景に裸核様の N/C 比の高い異型細胞が集塊や散在性に出現している。異型細胞の形

状は類円形～短紡錘形で、核の大きさは本症例では線毛円柱上皮細胞とほぼ同等で、小型リンパ球と比して 2～3 倍大きい。集塊では相互圧排像が認められる。強拡大では異型細胞のクロマチンは微細顆粒状に増量しており、核小体は目立たない。これらの所見から小細胞癌が推定可能と考える。

その他、小細胞癌の特徴的所見として、喀痰材料では線状配列、擦過材料では塗抹時に核が壊れて核線がみられることがある。

設問4 正解：〔判定区分〕 腫瘍

〔推定病変あるいは細胞〕 カルチノイド腫瘍

【解説】

弱拡大では、ほぼ均一な大きさの小型腫瘍細胞が平面的な配列で、結合性の弱い集塊から孤立性に出現している。

強拡大では、核は類円形で、クロマチンは軽度増量し顆粒状（salt and pepper）である。1～複数個の小型で比較的明瞭な核小体を認める。細胞質は広く泡沫状で、細胞質の辺縁は不明瞭である。一部にはロゼット様の配列を認める。核分裂像や壊死は認めない。

以上よりカルチノイド腫瘍を考える。本症例は定型カルチノイドであった。

定型カルチノイドと異型カルチノイドは、核分裂像と壊死の有無で鑑別する。

肺カルチノイド腫瘍は 2015 年の WHO 分類、2017 年の日本肺癌取り扱い規約から小細胞癌や大細胞神経内分泌癌と同じカテゴリーの神経内分泌腫瘍として亜分類され、日本語名称が定型的カルチノイドから定型カルチノイドに、非定型的カルチノイドから異型カルチノイドに変更になっている。

設問5 正解：〔判定区分〕 悪性

〔推定病変あるいは細胞〕 中皮腫（悪性中皮腫）

【解説】

リンパ球や組織球を背景に異型細胞が乳頭様集塊から孤立散在性に出現している。細胞質はライトグリーン好染性で、核は類円形を示しており小型の核小体も認められる。核は中心から偏在性で単核や二核、多核を示している。

核の大小不同や軽度の核形不整が認められるが、個々の細胞異型は比較的軽度である。反応性中皮細胞との鑑別を要するが、中皮腫は乳頭様集塊など立体的な異型細胞集塊が多数認められる。また、相互封入像、多核細胞、hump 様細胞質突起や、今回は提示していないがオレンジ G に好染した偽角化細胞などの所見も両者の鑑別には有用と考える。

上皮型中皮腫では強い細胞異型を伴う例があり中皮細胞としての特徴を逸する場合は、低分化癌との鑑別が困難になる。線維形成性中皮腫では、稀であるがアスベスト小体が認められることがある。

中皮腫は、胸膜、腹膜、心嚢膜、精巣鞘膜に発生する悪性腫瘍で、初期は無症状であるが、胸水の増加に伴い胸部圧迫感や今回の症例のように労作時呼吸苦で発見される事が多い。

診断においても有用であるが、石綿被害救済に関する法律において組織診断または細胞診で診断書を提出する際に必要なため免疫染色は必要不可欠であると考ええる。

設問6 正解：〔判定区分〕 悪性

〔推定病変あるいは細胞〕 腺癌

【解説】

今回提示した症例は、60 歳代男性の腭液で、血性背景に異型細胞集塊が散見される。異型細胞集塊は、配列不整を呈し、核密度が高く、重積性を伴っている。集塊辺縁には、核の飛び出し像も確認できる。異型細胞は、核腫大、核の大小不同、くびれや切込みのような核形不整、核小体は大型で赤く明瞭であり、核クロマチンは微細顆粒状で増量している。核は偏在性で、ピンク色の粘液もみられる。以上の所見より腺癌と考えることができる。本症例は浸潤癌であったことから浸潤性腭管癌、腭管癌も正解としている。

腭癌は全悪性腫瘍の中でも極めて予後不良な腫瘍の一つであり、早期診断・早期治療が望まれる。近年、画像診断の発達により腭癌の診断精度は向上しているが、良悪の鑑別や組織型の確定には生検・細胞診が必要となる。近年の超音波内視鏡下穿刺吸引法(endoscopic ultrasound guided fine needle aspiration : EUS-FNA)の普及と発展により腭腫瘍を取り巻く環境は大きく変化している。しかしながら、腭液・腭管擦過細胞診の有用性はいまだに高く、多くの施設で施行されている。腭腫瘍は、細胞診で悪性の判定がでると早期に手術となるため過剰判定になることも危険である。腭液・腭管擦過では反応性に变化した細胞でも大型や軽度の配列不整を呈してくることから良悪及び、組織型の推定は大変重要である。

設問7 正解：〔判定区分〕 良性

〔推定病変あるいは細胞〕 乳管内乳頭腫

【解説】

今回提示した症例では、きれいな背景に血管軸を伴って多分岐し、筋上皮細胞の付着や内部にライトグリーン濃染性の間質結合組織を有する乳頭状集塊を認める。集塊を構成する細胞にはクロマチンの増量や明らかな核形不整は認めず、核異型は乏しい。以上から悪性所見は見られず、乳管内乳頭腫と推定可能である。

乳管内乳頭腫は 30～50 歳代の女性に多く、時に浸潤性乳管癌（腺管形成型）や重積性が目立つ症例での非浸潤性乳管癌（DCIS）との鑑別が重要になる。浸潤性乳管癌との鑑別は乳頭腫では間質結合組織と腺上皮細胞の結合性が強く、散在性細胞は少ない。対して浸潤性乳管癌（腺管形成型）では乳頭腫と比較すると細胞同士の結合性は弱く、集塊辺縁に“ほつれ”を伴うこともある。また、出現パターンとしては、シート状、篩状、乳頭状、腺管状、高円柱状など多岐に渡る。細胞異型についてはクロマチンの増量や、N/C 比の増大、核の大小不同、核形不整等の所見が認められる。非浸潤性乳管癌（DCIS）との鑑別では、乳頭腫での集塊を構成する細胞は主に楕円形で、核の配列や重積性も不規則である。また、一部にアポクリン化生変化を認めることもある。それに比べ、非浸潤性乳管癌（DCIS）の集塊構成細胞は円形細胞が主で、規則正しく重積し、癌細胞の集塊内にアポクリン化生変化は認めない。

また、末梢病変の穿刺吸引細胞診にて乳管内乳頭腫が疑われる症例は癌が併存する場合があるので注意が必要である。

設問8 正解：〔判定区分〕 腫瘍

〔推定病変あるいは細胞〕 髄膜腫

【解説】

小型類円形核を有する細胞のシート状集塊を認める。渦巻き形成も多数認める。核は小型で、N/C 比の増加はなく、クロマチンは微細で均等分布している。強拡大で注意深く観察すると、核内封入体を認める。標本上に明らかな核分裂像は認めない。髄膜腫の細胞像である。

髄膜腫は髄膜(硬膜、クモ膜、軟膜)を構成する細胞から発生する腫瘍群である。全年齢層に発生するが、30～50 歳にピークがあり、女性にやや多い。テント上に最も多く発生し、特に傍矢状部、蝶形骨縁、大脳鎌、小脳テント部に好発する。

形態学的特徴は組織型によってさまざまであるが、細胞像では核は類円形～紡錘形を示し、軽度の大小不同が見られることがある。細胞質は線維状～紡錘状、不整形でライトグリーンに淡染性を示す。渦巻き形成、砂粒小体や核内封入体は髄膜腫を示唆する所見である。

髄膜腫には 15 の亜型が知られており、WHO 分類では『異型髄膜腫の診断基準』『退形成(悪性)髄膜腫の診断基準』に当てはめ、Grade I ～ Grade III に分類される。

髄膜皮性髄膜腫、線維性髄膜腫、移行性髄膜腫、砂粒腫性髄膜腫、血管腫性髄膜腫、微小嚢胞性髄膜腫、分泌性髄膜腫、リンパ球形質細胞に富む髄膜腫、化生性髄膜腫、脊索腫様髄膜腫、明細胞髄膜腫、異型髄膜腫、乳頭状髄膜腫、ラブドイド髄膜腫、退形成性(悪性)髄膜腫

圧挫標本や捺印標本をはじめとした細胞診標本では、細胞個々の形態や組織構築が保たれ、組織診断の補助として極めて重要な情報を得ることができる。脳腫瘍の術中迅速診断時に凍結組織標本と併用して細胞診標本を作製する施設も少なくない。細胞形態から、組織型を推定することは有用と考える。

【症例提供者】

今川 奈央子	・神戸大学医学部附属病院
尾松 雅仁	・神戸市立医療センター中央市民病院
太田 寛子	・宝塚市立病院
片山 裕司	・JCHO 神戸中央病院
小林 真	・兵庫県臨床検査研究所
佐藤 元	・兵庫医科大学病院
掘井 吉人	・西脇市立西脇病院
松木 慎一郎	・兵庫県立西宮病院

【講評】

今年度のサーベイも昨年度同様、各設問につき判定区分と推定病変を設け、判定区分では良性・悪性又は非腫瘍・腫瘍の2つから1つを選択、また子宮頸部はベセスダ分類に準じた判定とした。推定病変では症例に最も適当と思われる病変あるいは細胞を記述していただくようにした。これにより、選択の幅が広がり解答が絞り難くなるものの、消去法による安易な選択解答は回避できる。また、選択式をとる事で、記載された解答項目に当てはまらない等の混乱を防ぎ、臨床所見を加味しながら細胞をじっくり観察し、細胞を読むという細胞診の基本概念に立ち戻れると思われた。

今回の設問における判定区分の正答率は99.8%と高かった。前回と同様に選択肢を2択にしたのもその一因と思われる。しかし設問1でベセスダ分類の判定を間違った施設があった。ベセスダ分類の判断は婦人科細胞診の診断において重要と思われるため、解答と異なるものを選択された施設には、実施状況調査および改善報告書にて是正処置にご協力いただいた。協力していただいた施設には感謝申し上げます。

推定病変に関しても「a評価」93.0%、「b評価」5.3%の計98.3%と高い正答率であった。選択式ではなく記述式のため同じ解答でも若干の文言の違いが見られたが、多くは正解の範囲内であった。誤字や取扱い規約の変更点に対応できていないものを除くと、設問1では1施設、設問4では1施設、設問7では4施設、設問8では1施設、推定病変の間違いがあった。施設により症例に偏りがあると思われるが、一般病院などで日常遭遇するであろう症例を提示した。

【設問の正解と解説】を参考に、細胞所見を詳細に観察し、**推定病変**まで解答していただきたいと考える。

来年度以降も**判定区分**は選択式とし、**推定病変**に関しては、記述式から選択式への移行を例年考慮しているが、双方一長一短がありその判断は難しい。しかし**推定病変**については、各学会が発行している取り扱い規約の改定に伴って変更するため、サーベイは最新の規約に対応できているかを判断する良い機会であり、この点を重視すると記述式を採用する利点は大いにあると考える。

今回の設問では、子宮頸部1例、子宮体部1例、呼吸器2例、体腔液1例、消化器1例、乳腺1例、脳組織1例を出題した。今後も幅広く出題し、多くの症例を提示できればと考える。

【まとめ】

今回正答率がすべての問題で80%以上あり、満足できる内容であったが、ベセスダ分類の判定を間違った施設があった。先述したが、良悪の判定間違いによりC評価となった施設は、判断材料が写真のみである点、類似した特徴を示している点等から判定に苦慮したと考えられる。日常判定では標本全体を見ることができ、判定困難等での報告も可能である。また、臨床側に組織採取を依頼する事などで判断材料が増えるため、通常業務では同様の結果になる事は無く問題ないと判断した。出題側としても病変の推定が可能である写真を掲載できるように注意していきたい。細胞の見方は、数値として出るわけではないので、考えが合っても正答にたどりつくとは限らないので、C判定だから不適正とは考えていない。よって、正答へ導くための過程を状況調査報告書にて確認する事には十分な意義があると考えており、協力施設並びに全施設のご理解に大変感謝している。

最後に、ご多忙中にもかかわらず、精度管理にご参加いただいた各施設の技師の皆様に御礼申し上げます。

(文責：病理・細胞検査研究班)

表 1

回答 52 施設

設問	判定区分		推定病変		
	正答数	正答率(%)	正答数	正答数 (減点あり)	正答率(%)
1	51	98.1	51		98.1
2	52	100	41	11	100
3	52	100	52		100
4	52	100	51		98.1
5	52	100	49	3	100
6	52	100	52		100
7	52	100	44	4	92.3
8	52	100	47	4	98.1
平均	51.8	99.8	51.1		98.3

表 2

回答 52 施設

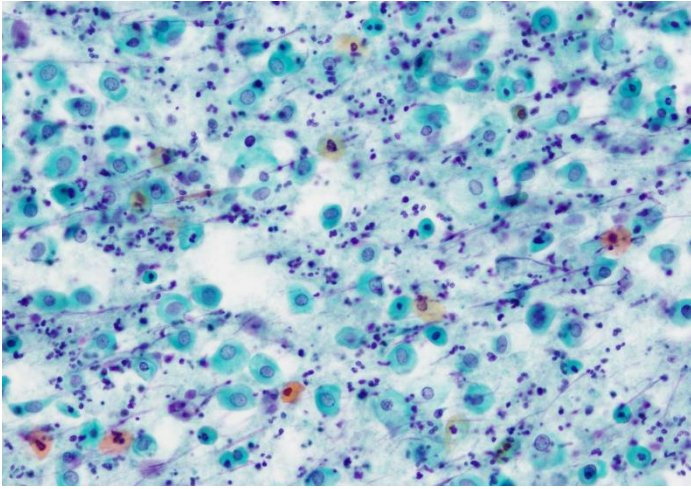
設問		判定区分		推定病変		
		NILM	HSIL 等	1 位	2 位	3 位
		良性	悪性			
		非腫瘍	腫瘍			
1	解答名			萎縮性腺炎	萎縮	炎症
	解答数	51	1	48	2	1
	(解答率)	(98.1%)	(1.9%)	(92.3%)	(3.85%)	(13.5%)
2	解答名			類内膜癌	類内膜腺癌	腺癌
	解答数	52	0	29	9	7
	(解答率)	(100%)	(0%)	(55.7%)	(17.3%)	(13.5%)
3	解答名			小細胞癌	—	—
	解答数	52	0	52		
	(解答率)	(100%)	(0%)	(100%)		
4	解答名			カルチノイド	カルチノイド腫瘍	定形カルチノイド
	解答数	52	0	35	12	1
	(解答率)	(100%)	(0%)	(67.3%)	(23.1%)	(1.92%)
5	解答名			悪性中皮腫	中皮腫	悪性中皮種
	解答数	52	0	38	10	2
	(解答率)	(100%)	(0%)	(73.1%)	(19.2%)	(3.85%)
6	解答名			腺癌	膵管癌	浸潤性膵管癌
	解答数	52	0	49	1	1
	(解答率)	(100%)	(0%)	(94.2%)	(1.92%)	(1.92%)
7	解答名			乳管内乳頭腫	乳管内乳頭種	乳頭腫
	解答数	52	0	40	4	2
	(解答率)	(100%)	(0%)	(76.9%)	(7.69%)	(3.85%)
8	解答名			髄膜腫	髄膜種	髄内腫
	解答数	52	0	47	4	1
	(解答率)	(100%)	(0%)	(90.4%)	(7.69%)	(1.92%)

表 3

施設番号	正解率	施設番号	正解率	施設番号	正解率
9270064	92.5%	9280092	100%	9280160	100%
9270069	100%	9280099	98.8%	9280164	96.3%
9280001	100%	9280100	100%	9280169	100%
9280002	100%	9280114	98.8%	9280187	100%
9280003	100%	9280115	100%	9280191	97.5%
9280010	100%	9280117	100%	9280206	98.8%
9280012	97.5%	9280124	98.8%	9280209	100%
9280020	100%	9280125	100%	9280237	100%
9280033	100%	9280130	100%	9280280	100%
9280035	95.0%	9280135	100%	9280322	96.3%
9280038	100%	9280140	100%	9280369	98.8%
9280042	97.5%	9280143	98.8%	9280390	100%
9280047	100%	9280146	100%	9280417	86.3%
9280051	100%	9280148	96.3%	9780014	98.8%
9280059	100%	9280149	100%	9780032	100%
9280060	98.8%	9280153	98.8%	9780060	96.3%
9280083	100%	9280155	97.5%	9780066	100%
9280091	100%				

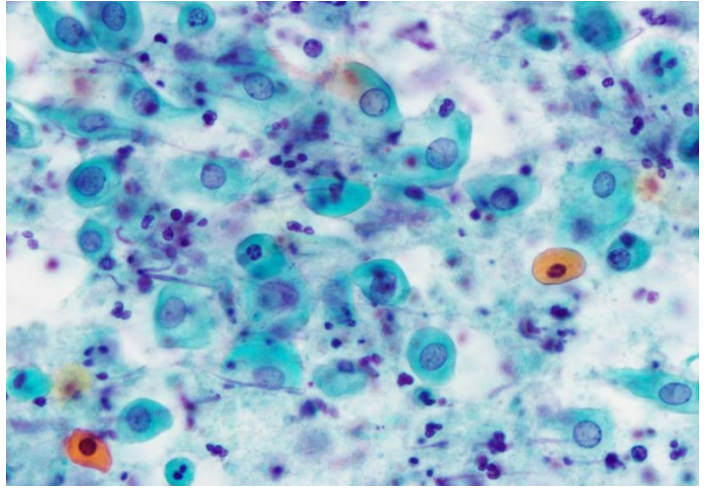
細胞診【 P1 】 フォトサーベイ ①

【設問 1】



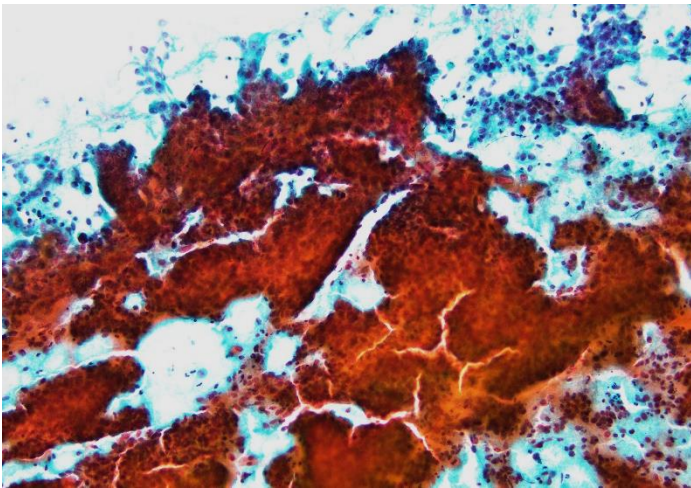
(フォト 1-A Pap.染色 弱拡大)

【設問 1】



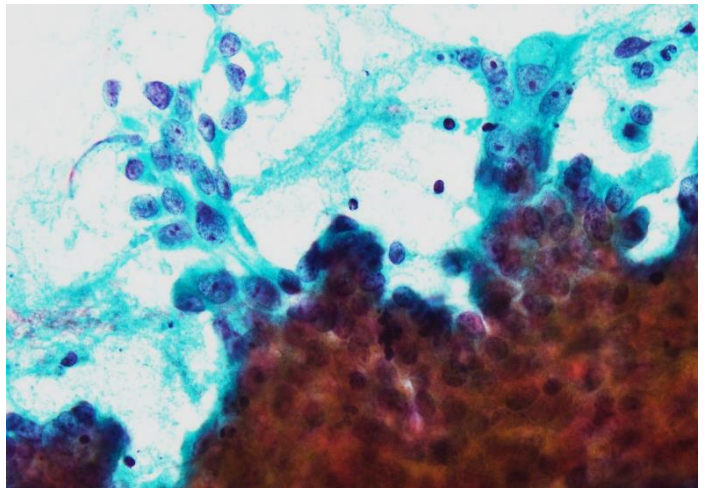
(フォト 1-B Pap.染色 強拡大)

【設問 2】



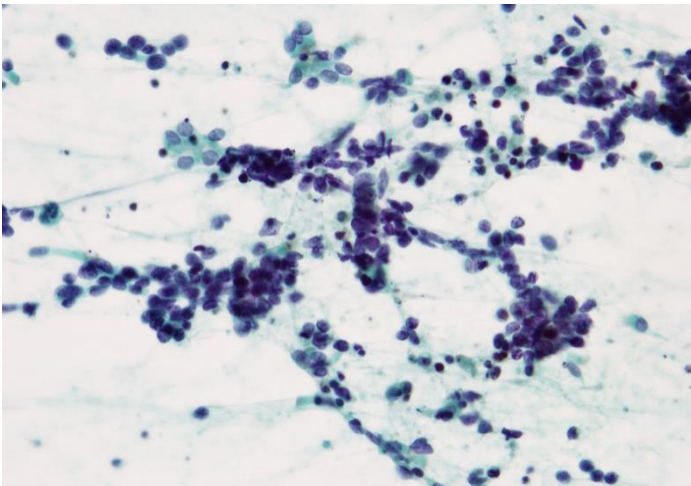
(フォト 2-A Pap.染色 弱拡大)

【設問 2】



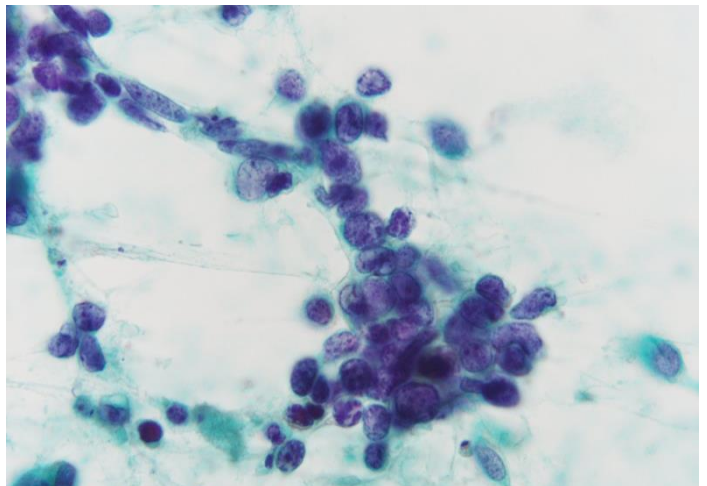
(フォト 2-B Pap.染色 強拡大)

【設問 3】



(フォト 3-A Pap.染色 弱拡大)

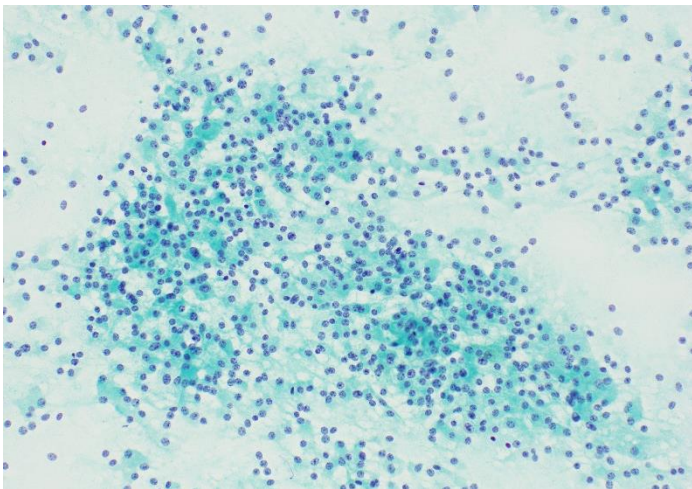
【設問 3】



(フォト 3-B Pap.染色 強拡大)

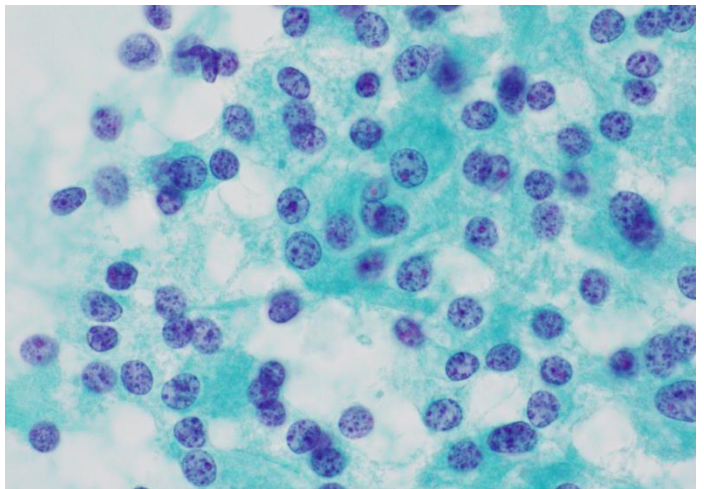
細胞診【 P1 】 フォトサーベイ ②

【設問 4】



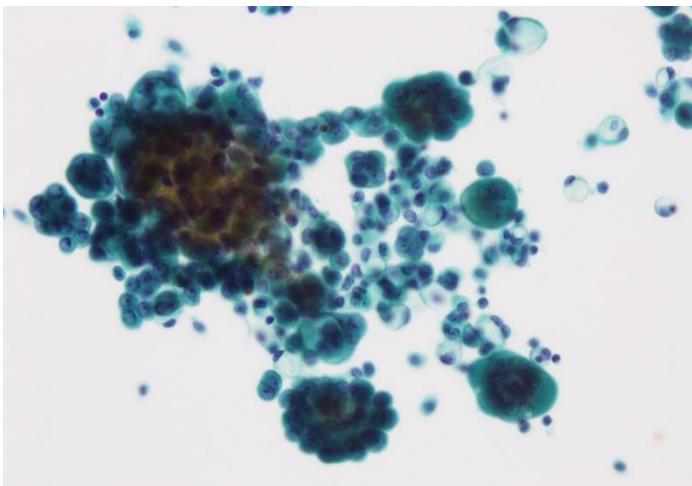
(フォト 4-A Pap.染色 弱拡大)

【設問 4】



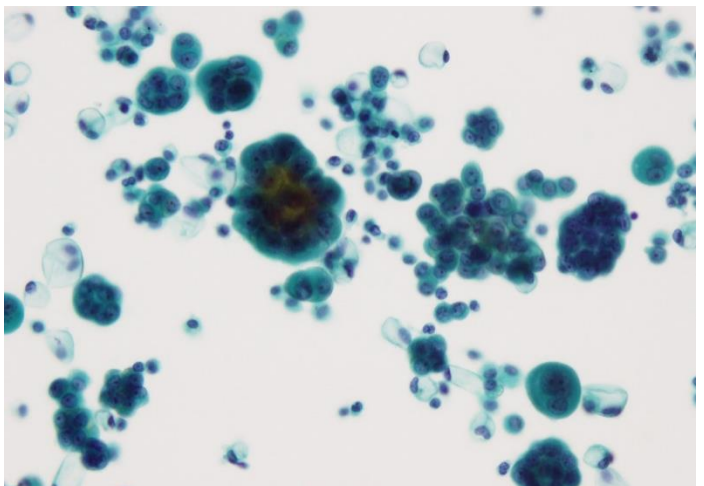
(フォト 4-B Pap.染色 強拡大)

【設問 5】



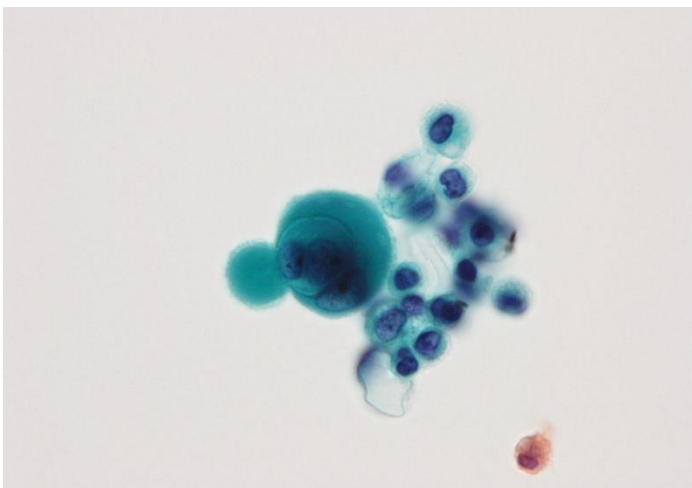
(フォト 5-A Pap.染色 強拡大)

【設問 5】



(フォト 5-B Pap.染色 強拡大)

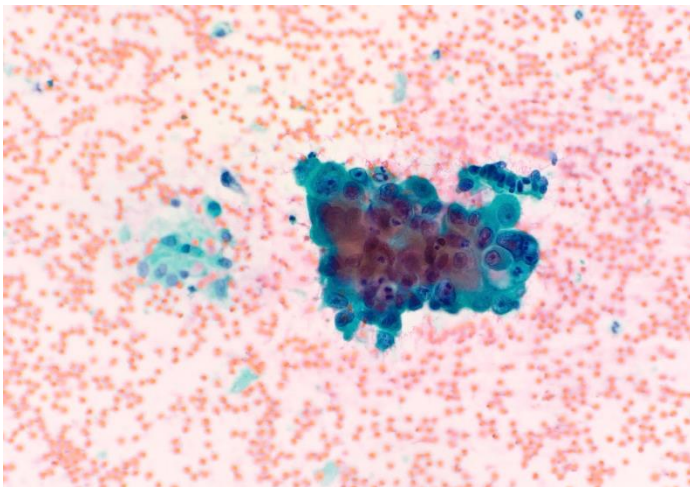
【設問 5】



(フォト 5-C Pap.染色 強拡大)

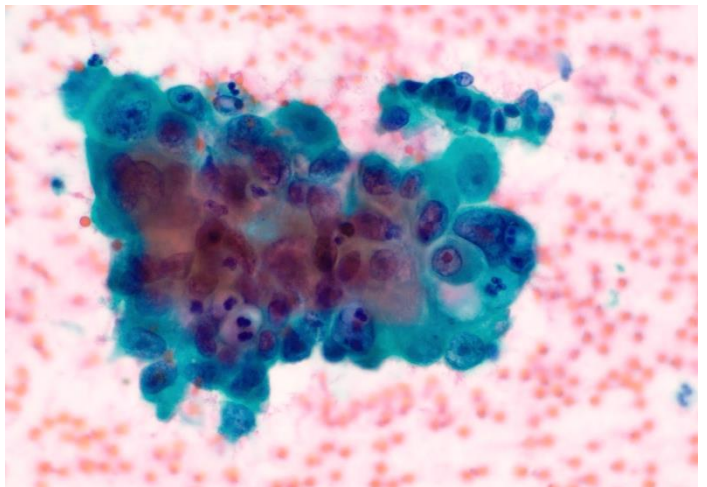
細胞診【 P1 】 フォトサーベイ ③

【設問 6】



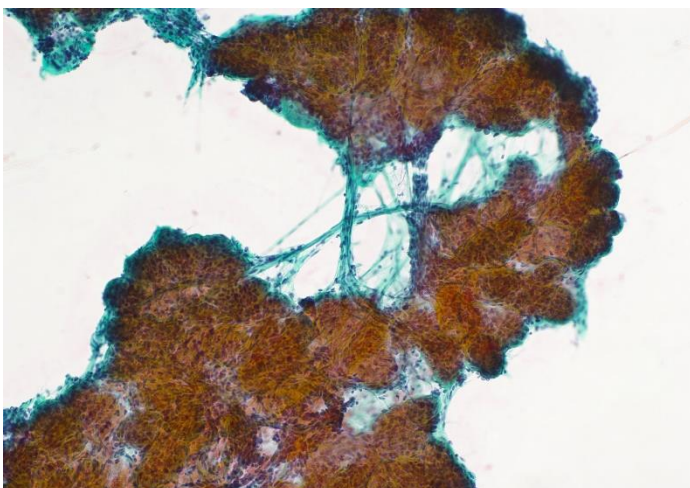
(フォト 6-A Pap.染色 弱拡大)

【設問 6】



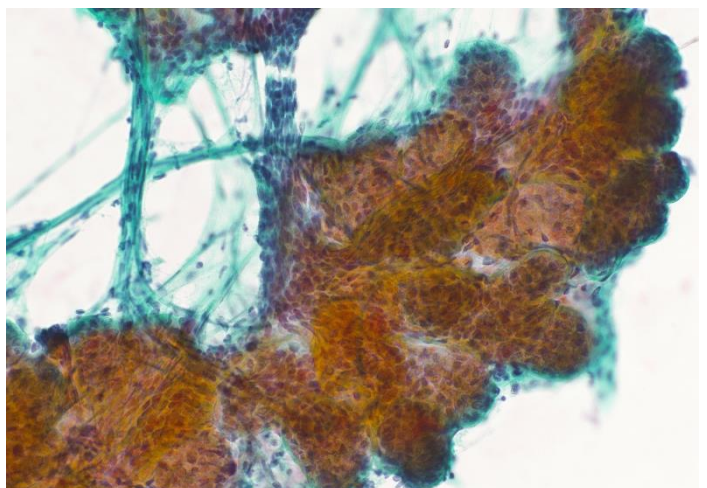
(フォト 6-B Pap.染色 強拡大)

【設問 7】



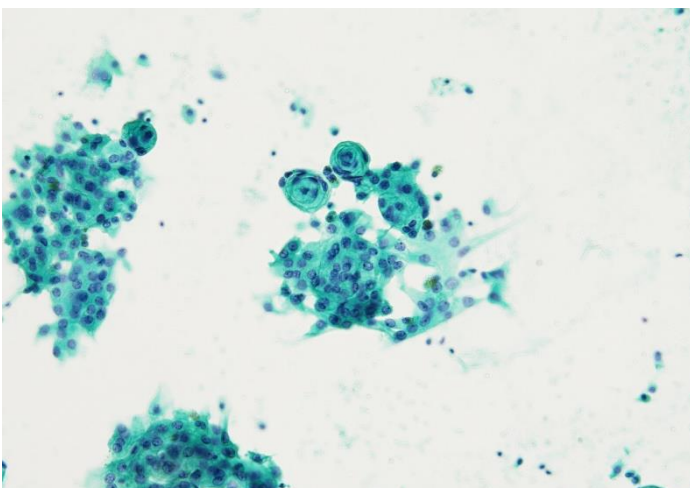
(フォト 7-A Pap.染色 弱拡大)

【設問 7】



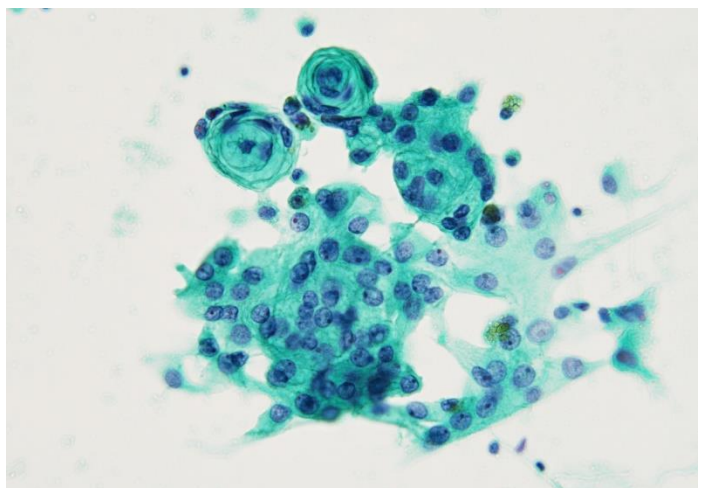
(フォト 7-B Pap.染色 強拡大)

【設問 8】



(フォト 8-A Pap.染色 弱拡大)

【設問 8】



(フォト 8-B Pap.染色 強拡大)