

# 病 理

# 令和元年度 病理組織検査サーベイ報告

## 病理(アミロイド染色)

### 【はじめに】

アミロイドとは、タンパク質性で、 $\beta$ シート構造が積層して沈着しているものである。アミロイド染色には現在コンゴレッド染色とDirect fast scarlet(以下:DFS)染色が主に使用されている。ともにアミロイドを橙赤色に染め、組織へのアミロイド沈着を証明するうえで最も重要な染色となっている。コンゴレッド染色、DFS染色共に染色の原理は、コンゴレッド色素(or DFS色素)分子がアミロイドタンパクと水素結合し橙赤色を呈する。現在、DFS染色は共染が少なく、また市販試薬としても発売され、安定して染めることができるため多くの施設で染色されている(以下アンケート参照)。

例年のごとく、施行者の技量、染料以外の個体差、検体間の取り扱い差が出にくく、病理組織検査法の標準化を推進するため実施したので、その方法と成績結果について報告する。

### 【材料および実施方法】

材料は10%中性緩衝ホルマリン液にて固定した腸のパラフィン包埋ブロックを使用。各施設でアミロイド染色に適切な厚さに薄切し、染色を実施して頂いた。

なお、染色工程により染色結果に差異が生じると思われたので、所定の報告書をウェブ上で公開し、各施設で現在行っている方法の記入もお願いした。

### 【判定方法】

下記の事項を基準に減点法で判定した。

- ① アミロイドを赤～橙赤色に染め分けられて、核を黒褐色に染め分けできているか
- ② 染色ムラやコントラスト、色バランスなど
- ③ 薄切、封入などの技術的な部分

以上の3項目について判定者は、兵臨技・病理細胞検査研究班 解析委員(8人)で行い、病理医の立場から、伊藤 智雄先生(神戸大学附属病院 病理部)にご確認頂いた。

今年度より判定基準を変更し、『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』として、慎重なる評価判定を行った。

### 【結 果】

<集計にあたって>

申し込み施設数41に対し、回収施設数41(100%)であった。

<集計結果>

アミロイド染色についてのアンケート(1)～(4)の集計結果は別表に示すとおりである。また、アンケート(5)(6)についても記載した。

### 染色の判定結果および講評評価

兵臨技精度管理調査の病理組織検査部門への参加施設総数は41施設であった。

今回はパラフィン包埋ブロックを用い、参加施設で薄切し、染色を実施して頂く精度管理となった。

参加施設の判定結果(ランク総数)は表1に示し、染色の評価は表2のごとくである。

<アミロイド染色について>

- 1) 『満足すべき標本(A-a)』と判定された施設はコンゴレッド染色で2施設、DFS染色で1施設であった。これらの施設は、アミロイドを赤～橙赤色に染め分けられている、染色ムラや共染が見られない、もしくは共染が見られてもごく軽度であり、また全体のバランスが適切で観察しやすい仕上がりであった。偏光顕微鏡下で緑色の屈折も見られ、病理診断をするにおいて満足すべき標本であった。
- 2) 『診断上支障のない標本(A-b)』と判定された施設はコンゴレッド染色で8施設、DFS染色で20施設であった。アミロイドを赤～橙赤色に染め分けられているが、一部に共染、また染色の濃淡がある。偏光顕微鏡下で緑色の屈折も見られ、病理診断において差し支えのない標本であった。
- 3) 『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コンゴレッド染色で3施設、DFS染色で7施設であった。アミロイドを赤～橙赤色に染め分けられているが、赤色が他の細胞にもかぶっていてアミロイドとの染め分けが判別しにくい。また、ヘマトキシリンがアミロイドにもかぶっており、赤紫色を呈している標本であった。偏光顕微鏡下で緑色の屈折は見られた。
- 4) 『診断上支障をきたす標本』は、今回0施設であった。

参加施設の判定結果(ランク総数)(表1)

| 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  |                      |                |
| 標本数<br>(%)              | 3<br>7.3%     | 28<br>68.3%  | 10<br>24.4%          | 0<br>0.0%      |
| A-a<br>満足すべき標本:         |               | アミロイドを赤～橙赤色に染め分けられている。コントラストが良く、共染もほとんど見られない。偏光顕微鏡下で緑色の屈折も見られる。  |                      |                |
| A-b<br>診断上支障のない標本:      |               | アミロイドを赤～橙赤色に染め分けられているが、一部に共染、また染色の濃淡がある。偏光顕微鏡下で緑色の屈折は見られる。   |                      |                |
| B<br>診断上支障はないが改善が必要な標本: |               | アミロイドを赤～橙赤色に染め分けられているが、赤色が他の細胞にもかぶっていてアミロイドとの染め分けが判別しにくい。また、ヘマトキシリンがアミロイドにもかぶっており、赤紫色を呈している。偏光顕微鏡下で緑色の屈折は見られる。 |                      |                |
| C<br>診断上支障をきたす標本:       |               | アミロイドを赤～橙赤色に染めているが、他にも共染が強く、判断できない。  |                      |                |

【結 語】

アミロイド染色の精度管理における結果は『満足すべき標本』および『診断上支障のない標本』と判定された施設は41施設中、41施設(100.0%)という結果が得られた。

A—a『満足すべき標本』と評価された施設は7.3%であった。この結果に満足せず、アンケート結果などを参考により一層の精度向上に努めて頂きたい。

A—b『診断上支障のない標本』と評価された施設は68.3%であった。アミロイドを赤～橙赤色に染め分けられているが、染色性がやや弱い・やや強い、他、少し共染が見られるが、コントラストは良い。

B『診断上支障はないが改善が必要な標本』と評価された施設は24.4%であった。A—bの施設に比べて全体のバランスが悪く、コントラストが悪い。診断上支障はない標本ではあるが、高評価施設の染色法を参考に自施設の染色法を再検討し、品質向上に努めて頂きたい。

C『診断上支障をきたす標本』の施設は、今回は0施設であった。

アミロイド染色の実施件数は34施設がひと月に0～5枚であり、少ない施設が多かった。

薄切厚は24施設が3～4μmと多かった。アミロイド染色は少し厚めに薄切してアミロイドの量を増やすことに

より標本がきれいに見えることも言われており、5~6 $\mu$ m の施設も2番目に多かった。今回、A-a評価の3施設の内2施設が厚めに薄切している施設であったので、薄切厚もきれいな標本を作るためのポイントではないかと思われる。

染色方法は上記にもあるように大きくコンゴレッド染色とDFS染色に分けられる。その中で、コンゴレッド染色は市販の調整済み試薬の使用施設が2施設、自家調整施設が11施設あり、自家調整施設は Bennhold 法(3施設)、媒染剤を用いる Puchtler-sweat 法(2施設)、溶剤にエタノールを使用する Highman 法(4施設)、Phenol congo red 法(2施設)に大きく分けられた。調整済み試薬を用いている1施設でもエタノールとの等量混合を行っている施設があった。

酸化処理を行っている施設は2施設あり、共に Phenol congo red 法の施設であった。

DFS染色は市販の調整済み試薬の施設が11施設、自家調整施設が17施設であった。自家調整は(DFS+蒸留水+硫酸 Na+プロピルアルコール)の施設が7施設、(DFS+蒸留水+炭酸 Na+エタノール)は3施設、(DFS+蒸留水+NaCl+エタノール)は3施設、(DFS+蒸留水+硫酸 Na+エタノール)は1施設、(DFS+蒸留水+炭酸 Na+プロピルアルコール)は1施設であった。自家調整の2施設は記載がなかった。

染色時間は、コンゴレッド染色は30分が4施設、次いで60分が3施設と多かった。DFS染色は加温して60分、常温10分が6施設と一番多く、次いで加温して30~40分が5施設と多かった。A-a評価施設は、コンゴレッド染色は5~20分、DFS染色は加温60分であった。

分別は、コンゴレッド染色で10施設行われており、KOH+エタノールが一番多く4施設、NaOH+エタノールが3施設、10%アンモニア水溶液、アルコール・アンモニア液、純エタノールがそれぞれ1施設であった。分別を必要としない Puchtler-sweat 法の施設でも純エタノールで分別を行っている施設があった。DFS染色では5施設行われており、3%硫酸銅液が4施設、希アンモニア水が1施設であった。

今回のアミロイド染色は、月々の染色回数は比較的少ない方ではあるが、アミロイドーシスを証明するためには必要な特殊染色である。現在、コンゴレッド液やDFS液も調整済みがあり、簡便な作業で染色を行えるようになっているが、まだまだ自家調整を行い、染色をしている施設も多い。染色時間は5分の施設から70分の施設間でさまざま、これは、アミロイド染色も上記のように染色方法が多数あるためと考えられる。

調整済み試薬を用いている施設でDFSはA-a評価が1施設あった。市販の調整済みDFS液を用いている施設はすべてA-b評価以上であり、染色方法に少し違いは見られたが、とても良好な染色結果であった。

コンゴレッド染色液の調整済みを使用している施設で1施設B評価がみられた。コンゴレッド染色はアンケートにもあったが分別にコツがあるようで、個人の手技による差が出やすい染色だと考えられる。分別を必要としない Puchtler-sweat 法を行っている施設は2施設ともA-b評価と安定した染色性を示していた。

DFSでは、媒染剤が多数にわかれていたが、今回の結果では、媒染剤による差は見られなかった。

コンゴレッド染色とDFS染色でB評価となった施設に共通して見られたのは、分別不足により、筋層や他の細胞に赤色が残っていたり、ヘマトキシリンによりアミロイド部分が赤紫色に染まっていたりしていた標本であった。同じ試薬を用いているにも関わらずA評価とB評価の施設もあり、技術的な要因、薄切厚による要因等が考えられた。

A評価施設の染色手順を教えてくださいまして下記に記載している。参考にして頂けたら幸いである。

解析集に判定(ランク別)結果の病理組織標本写真を掲載しているので参考にさせていただきたい。

我々病理・細胞検査研究班は、病理技術の向上および普及を図り、病理組織検査法の標準化を推進するよう努力するために精度管理を引き続き行わなければならないと痛感した。

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)

## 令和元年度(第39回)兵臨技臨床検査精度管理

## 病理組織検査報告書(表2)

|    | 施設番号    | アミロイド染色評価 |     |   |   |
|----|---------|-----------|-----|---|---|
|    |         | A-a       | A-b | B | C |
| 1  | 9280001 | ○         |     |   |   |
| 2  | 9280002 |           |     | ○ |   |
| 3  | 9280003 |           | ○   |   |   |
| 4  | 9280010 |           | ○   |   |   |
| 5  | 9280012 |           | ○   |   |   |
| 6  | 9280033 | ○         |     |   |   |
| 7  | 9280035 |           |     | ○ |   |
| 8  | 9280047 |           | ○   |   |   |
| 9  | 9280051 |           | ○   |   |   |
| 10 | 9280060 |           | ○   |   |   |
| 11 | 9280083 | ○         |     |   |   |
| 12 | 9280091 |           | ○   |   |   |
| 13 | 9280092 |           | ○   |   |   |
| 14 | 9280095 |           | ○   |   |   |
| 15 | 9280099 |           | ○   |   |   |
| 16 | 9280100 |           |     | ○ |   |
| 17 | 9280115 |           | ○   |   |   |
| 18 | 9280117 |           | ○   |   |   |
| 19 | 9280125 |           |     | ○ |   |
| 20 | 9280130 |           |     | ○ |   |
| 21 | 9280135 |           | ○   |   |   |
| 22 | 9280140 |           | ○   |   |   |
| 23 | 9280143 |           |     | ○ |   |
| 24 | 9280146 |           | ○   |   |   |
| 25 | 9280148 |           | ○   |   |   |
| 26 | 9280149 |           | ○   |   |   |
| 27 | 9280153 |           |     | ○ |   |
| 28 | 9280160 |           |     | ○ |   |
| 29 | 9280162 |           | ○   |   |   |
| 30 | 9280164 |           | ○   |   |   |
| 31 | 9280169 |           | ○   |   |   |
| 32 | 9280187 |           | ○   |   |   |
| 33 | 9280191 |           |     | ○ |   |
| 34 | 9280237 |           | ○   |   |   |
| 35 | 9280280 |           | ○   |   |   |
| 36 | 9280322 |           | ○   |   |   |
| 37 | 9280390 |           | ○   |   |   |
| 38 | 9780014 |           | ○   |   |   |
| 39 | 9780032 |           | ○   |   |   |
| 40 | 9780060 |           |     | ○ |   |
| 41 | 9780066 |           | ○   |   |   |

## アミロイド染色のアンケート結果

(1) 貴施設では1ヶ月何枚位、アミロイド染色をしていますか。

| 薄切枚数(月) | 施設数(41) | %    |
|---------|---------|------|
| 0~5枚    | 34      | 82.9 |
| 6~10枚   | 6       | 14.6 |
| 11~50枚  | 1       | 2.4  |

(2) 何 $\mu$ mで薄切していますか。

| 薄切厚         | 施設数(41) | %    |
|-------------|---------|------|
| 1~2 $\mu$ m | 1       | 2.4  |
| 3~4 $\mu$ m | 24      | 58.5 |
| 5~6 $\mu$ m | 14      | 34.1 |
| 7 $\mu$ m以上 | 2       | 4.9  |

(3) 今回貴施設で行った方法を具体的に記入して下さい。

| 脱パラ         | 施設数(41) | %    |
|-------------|---------|------|
| Xy→AL       | 38      | 92.7 |
| 代替Xy→AL     | 1       | 2.4  |
| UIXy→AL     | 1       | 2.4  |
| リモクリーナーD→AL | 1       | 2.4  |

| 酸化                                 | 施設数(2) | %    |
|------------------------------------|--------|------|
| 0.5%過マンガン酸カリウム液(1分)+2%シュウ酸溶液(1分)   | 1      | 50.0 |
| 0.1%過マンガン酸カリウム水溶液(1分)+2%シュウ酸溶液(1分) | 1      | 50.0 |

| コンゴレッド(Bennhold法) | 施設数(3) | %    |
|-------------------|--------|------|
| 1%コンゴレッド溶液(13分)   | 1      | 33.3 |
| 1%コンゴレッド溶液(60分)   | 2      | 66.7 |

| コンゴレッド(Highman法)        | 施設数(4) | %    |
|-------------------------|--------|------|
| 1%コンゴレッド溶液+AL等量混合液(5分)  | 1      | 25.0 |
| 1%コンゴレッド溶液+AL等量混合液(30分) | 3      | 75.0 |

| コンゴレッド(Puchtler-sweat法)         | 施設数(2) | %     |
|---------------------------------|--------|-------|
| 80%AL+NaCl+コンゴレッド+0.1%NaOH(20分) | 2      | 100.0 |

| コンゴレッド(Phenol congo red)                | 施設数(2) | %    |
|---|--------|------|
| 0.2%コンゴレッド溶液(AL等量混合)+NaCl+酢酸+フェノール(20分) | 1      | 50.0 |
| 0.2%コンゴレッド溶液+NaCl+酢酸+フェノール(60分)         | 1      | 50.0 |

| コンゴレッド(調整済み市販試薬)        | 施設数(2) | %    |
|-------------------------|--------|------|
| コンゴレッド液(5分)             | 1      | 50.0 |
| コンゴレッド液:100%エタノール 等量混合液 | 1      | 50.0 |

| DFS染色(硫酸Na+プロピルアルコール) | 施設数(7) | %    |
|-----------------------|--------|------|
| DFS溶液(10分)            | 3      | 42.9 |
| DFS溶液(20分)            | 2      | 28.6 |
| DFS溶液(30分)            | 1      | 14.3 |

|                |   |      |
|----------------|---|------|
| DFS溶液(60°C70分) | 1 | 14.3 |
|----------------|---|------|

| DFS染色(炭酸Na+エタノール) | 施設数(3) | %    |
|-------------------|--------|------|
| DFS溶液(15分)        | 1      | 33.3 |
| DFS溶液(20分)        | 2      | 66.7 |

| DFS染色(NaCl+エタノール) | 施設数(3) | %    |
|-------------------|--------|------|
| DFS溶液(60分)        | 1      | 33.3 |
| DFS溶液(50°C60分)    | 1      | 33.3 |
| DFS溶液(60°C60分)    | 1      | 33.3 |

| DFS染色(硫酸Na+エタノール) | 施設数(1) | %     |
|-------------------|--------|-------|
| FDS溶液(10分)        | 1      | 100.0 |

| DFS染色(炭酸Na+プロピルアルコール) | 施設数(1) | %     |
|-----------------------|--------|-------|
| DFS溶液(60°C30分)        | 1      | 100.0 |

| DFS染色(記載なし) | 施設数(2) | %     |
|-------------|--------|-------|
| DFS溶液(15分)  | 2      | 100.0 |

| DFS染色(調整済み市販試薬)    | 施設数(11) | %    |
|--------------------|---------|------|
| DFS溶液(10分)         | 1       | 9.1  |
| DFS溶液(15分)         | 1       | 9.1  |
| DFS溶液(60分)         | 1       | 9.1  |
| DFS溶液(50°C30分~40分) | 4       | 36.4 |
| DFS溶液(50°C60分)     | 3       | 27.3 |
| DFS溶液(60°C60分)     | 1       | 9.1  |

| 分別(コンゴレッド染色)        | 施設数(13) | %     |
|---------------------|---------|-------|
| 1%KOH 50%エタノール溶液    | 2       | 15.4% |
| 1%KOH 80%エタノール溶液    | 1       | 7.7%  |
| 0.01%KOH 50%エタノール溶液 | 1       | 7.7%  |
| 1%NaOH 50%エタノール溶液   | 2       | 15.4% |
| 0.2%NaOH 80%エタノール液  | 1       | 7.7%  |
| アルコール・アンモニア液        | 1       | 7.7%  |
| 10%アンモニア水溶液         | 1       | 7.7%  |
| 100%エタノール           | 1       | 7.7%  |
| 分別なし                | 3       | 23.1% |

| 分別(DFS染色) | 施設数(28) | %     |
|-----------|---------|-------|
| 3%硫酸銅溶液   | 4       | 14.3% |
| 希アンモニア水   | 1       | 3.6%  |
| 分別なし      | 23      | 82.1% |

| 核染色液                | 施設数(41) | %     |
|---------------------|---------|-------|
| マイヤーヘマトキシリン(15秒~5分) | 18      | 43.9% |
| マイヤーヘマトキシリン(6~10分)  | 10      | 24.4% |
| Newヘマトキシリン液         | 2       | 4.9%  |

|                            |   |      |
|----------------------------|---|------|
| ヘマトキシリン 3G                 | 2 | 4.9% |
| 2倍希釈したティッシュ・テック ヘマトキシリン 3G | 1 | 2.4% |
| ギルのヘマトキシリン液(10分)           | 1 | 2.4% |
| カラッチのヘマトキシリン液(2~3分)        | 2 | 4.9% |
| New ヘマトキシリン液 TypeM(1~4分)   | 2 | 4.9% |
| ヘマトキシリン液                   | 3 | 7.3% |

| 脱水・透徹            | 施設数(41) | %    |
|------------------|---------|------|
| アルコール→キシレン       | 33      | 80.5 |
| イソプロピルアルコール→冷風乾燥 | 2       | 4.9  |
| 乾燥→キシレン          | 1       | 2.4  |
| アルコール→UIキシレン     | 1       | 2.4  |
| アルコール→ファストソルブ    | 1       | 2.4  |
| アルコール→代替えキシレン    | 1       | 2.4  |
| キシレン             | 1       | 2.4  |
| 記載なし             | 1       | 2.4  |

| 封入           | 施設数(41) | %     |
|--------------|---------|-------|
| マリノール        | 17      | 41.5% |
| エンテランニュー     | 16      | 39.0% |
| HSR 液        | 1       | 2.4%  |
| MGK-S        | 2       | 4.9%  |
| エクセルマウント 220 | 1       | 2.4%  |
| ユークリア 700    | 1       | 2.4%  |
| 記載なし         | 3       | 7.3%  |

(4) 今回使用した試薬とメーカー名を記入して下さい。

1). コンゴールレッド液(13施設)

| 試薬メーカー     | 施設数(13) | %    |
|------------|---------|------|
| 調整試薬(武藤化学) | 2       | 15.4 |
| 自家調整       | 11      | 84.6 |

「理由」

- ・調整済みで染色性が安定している

2). DFS液(28施設)

|            | 施設数(28) | %    |
|------------|---------|------|
| 調整試薬(武藤化学) | 11      | 39.3 |
| 自家調整       | 17      | 60.7 |

「調整試薬を使う理由」

- ・染色性が安定している
- ・簡便できれいに染まる
- ・自家調整よりも安定している



【コンゴレッド液調整方法】

|              |  | メーカー              | 施設数     |
|--------------|--|-------------------|---------|
| 回答<br>(11施設) | コンゴレッド   | 和光・メルク・シグマ・片山化学工業 | 6・3・1・1 |
|              | フェノール(2施設)   | 山善                | 2       |
| 調整法          | 蒸留水50mLにCongoRed0.5gを溶解。<br>使用直前に100%アルコールと等量混合して使用  |                   |         |
|              | 80%エタノール100mlにコンゴ赤0.12~0.2gを完全に溶解させ、さらに1.0~1.5gの食塩を加えて1晩攪拌する。使用前に濾過し、濾液100mlに対し、0.1%NaOHを1ml加える。                       |                   |         |
|              | Congo Red試薬1gを蒸留水100mlに溶解。<br><br>コンゴレッド液:コンゴレッド0.2g+蒸留水100ml+NaCl 9g+100%アルコール100ml<br>コンゴレッド液:フェノール:酢酸=100:5:1で使用時調整 |                   |         |

(5) 染色操作や試薬調整方法のコツや工夫していること、注意点などがあれば具体的に教えて下さい。

- ・コンゴレッド液は使用前に濾過しています。分別は、顕微鏡下で行っています。
- ・コンゴレッド液に入れた後の水洗は、赤色が落ちる程度に軽くする。10%アンモニア水での分別は2分くらいで一度検鏡して分別具合を確認。分別が足りなければもう一度行う。
- ・脱色・分別時の色合調整が難しいです。
- ・分別操作で色が落ちやすいので、時間厳守する。過マンガン酸カリウム液で切片が黄色、シュウ酸で切片が脱色されることを目視でも確認する。
- ・コントロールを同時に染色している。

【DFS液調整方法】

|              |   | メーカー | 施設数 |
|--------------|---|------|-----|
| 回答<br>(17施設) | DFS   | 武藤化学 | 15  |
|              | DFS   | 記載なし | 2   |
| 調整法          | 蒸留水(50ml)にDirect Fast Scarlet 4BS(0.1g)を溶かし、無水硫酸ナトリウム(0.4g)を加えたものを原液とした。使用時に原液と100%エタノールを等量混合し使用した。 |      |     |
|              | DFS4BS 0.2g、硫酸ナトリウム 0.8g、蒸留水 50mlを混合して作製したDFS原液と2-プロパノールの等量混合。                                      |      |     |
|              | 1%DFS水溶液に、1%の割合で無水炭酸ナトリウムを溶解する。これを原液として、使用時に100%アルコールと等量混合する。                                       |      |     |
|              | 蒸留水にて1%DFS-4BSを調整して50mlずつ分注保存、染色時に加温しNaClを5g加え、加温溶解し濾過。<br>濾液:無水エタノール=4:1となるよう無水エタノールを添加。           |      |     |

(5) 染色操作や試薬調整方法のコツや工夫していること、注意点などがあれば具体的に教えて下さい。

- ・切片を5μm程度に厚めに薄切する。DFS染色液の色素が落ちないように脱水をエタノールからイソプロパノールで行い乾燥させた後に透徹・封入を行う。
- ・核染色は短めにする。

- ・DFS液調整は時間をかけて攪拌し、溶解するようにしています。
- ・50°Cに加温して染色している。
- ・DFS後きちんと色が入っているか顕微鏡で確認している。
- ・陽性対照をつけている。

(6)また染色についての質問等あればお書きください。

・朱色に強く染まっても偏光が弱い標本と、朱色が薄くても偏光が強い標本ではどちらが良い標本といえるのでしょうか。

・核染色を先に行うのと後に行うのと違いがあるようですが、集約されたデータを閲覧してみたいと思います。

#### A評価プロトコル(コンゴレッド染色・Highman法)

|            |   |
|------------|---|
| ① 脱パラフィン操作 | キシレン 4 槽 エタノール 7 槽  |
| ②水 洗       | 数秒  |
| ③核 染 色     | ヘマトキシリン 3G 5 分  |
| ④水 洗       | 数秒  |
| ⑤アミロイド染色   | 1%コンゴ赤水溶液 5 分(蒸留水 50ml に Kongorot0.5g を溶解。使用直前に 100%アルコールと等量混合して使用) |
| ⑥水 洗       | 数秒  |
| ⑦分 別       | 1%KOH を用いて顕微鏡で見ながら分別する(80%エタノール 50ml に水酸化カリウム 0.1gを溶解)              |
| ⑧水 洗       | 流水水洗  |
| ⑨脱 水 ・ 透 徹 | エタノール 7 槽 キシレン 4 槽  |
| ⑩乾 燥       | なし  |
| ⑪封 入       | マリノール   |

#### A評価プロトコル(DFS染色)

|            |  |
|------------|--|
| ①脱パラフィン操作  | キシレン I ~ III(各 5 分)、100%アルコール(1 分)95%AL(1 分)80%AL(1 分) |
| ②水 洗       | 水洗槽(1 分)   |
| ③アミロイド染色   | DFS 液(市販)60°C60 分                                      |
| ④水 洗       | 流水水洗(5 分)  |
| ⑤核 染 色     | マイヤーヘマトキシリン(1 分)                                       |
| ⑥水 洗       | 流水水洗(5 分)  |
| ⑦分 別       | 1%炭酸リチウム液(1 分)   |
| ⑧水 洗       | お湯水洗(10 分)   |
| ⑨脱 水 ・ 透 徹 | 100%アルコール I ~ III、キシレン I ~ III(各 1 分)                  |
| ⑩乾 燥       | なし   |
| ⑪封 入       | エンテランニュー   |

# 細胞

# 令和元年度 細胞検査サーベイ報告

## 細胞フォトサーベイ

### 【はじめに】

今回の細胞検査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、回答していただくようにした。また回答状況をよりよく把握するために、わからないとした理由や細胞所見などを書いていただける欄を設けた。

### 【サーベイ参加施設】

申し込み 49 施設に対し回答総数 49 施設(100%)であった。

### 【設問について】

今回のフォトサーベイはパパニコロウ染色を用い、設問にある検体、年齢、性別、および臨床所見を参照して回答していただいた。回答は**判定区分**と**推定病変**に分け、**判定区分**では陰性、陽性の 2 つから 1 つを選択、また子宮頸部にはベセスダシステムの判定基準を採用し、乳腺については乳癌取り扱い規約に準じた判定とした。

**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、わからないとした理由や細胞所見なども書い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。

### 【第 39 回サーベイ成績の概要】

回答総数 49 施設における正答率は判定区分では 99.5%、推定病変では 99.5%、合計では 99.5%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回答)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**では設問で 8 問中 6 問が 100%と高い正答率を示した。正答率の低かったのは設問 2、設問 4 の 98%であった。

**推定病変**では、設問 2 ではヘルペスと回答した施設が 1 施設、設問 4 では、腺癌と回答した施設が 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頂きたい。誤字についても 1 施設見られた。

今回、すべての問題において、正答率 80%以上となり、問題として適正と考える。

なお表 2 に設問別回答数を、表 3 に施設別正答率を示したので参考として頂きたい。

今回のサーベイより 10 点を A 評価、7 から 9 点を B 評価、6 点以下を C 評価として判断した。

## 【設問の正解と解説】

設問1 正解： 判定区分 陰性

推定病変あるいは細胞 エクソダス

好中球を主体とした炎症細胞と表層 type の上皮を散見する中に、N/C 比の高い細胞集塊を認める。強拡大では間質細胞と上皮細胞からなるドーナツ状の構造を示す集塊を認める。

エクソダスの所見と考える。また最終月経の時期としても矛盾しない。

設問2 正解： 判定区分 Adenocarcinoma

推定病変あるいは細胞 腺癌

壊死性を考える汚い背景に、好中球などの取り込み像がみられる。異型細胞の核は腫大しており、明瞭な核小体が複数みられ、クロマチン増量や切れ込みなどの核形不整などもみられる。また、核は偏在性で粘液様物質もみられる。腺癌を考える。

ヘルペス感染細胞は大型で核腫大し、破線状の核縁とクロマチン構造が不明瞭な「すりガラス状」のクロマチンが特徴的である。しばしば多核化するが、その場合、核の配列は圧排状である。核の中央に大型の核内封入体が見られることもある。N/C 比が増大し、核小体様にみられる核内封入体を有する場合もあるため、悪性細胞との鑑別が必要であるが、本症例においては核の悪性所見が明確であることや好中球の取り込み像が確認されるため、鑑別は可能であると考ええる。

なお、今回提示した細胞像のみでは、腺癌の組織型までの推定は困難であると考えられるため、子宮体癌、類内膜癌なども正解とした。

設問3 正解： 判定区分 悪性

推定病変あるいは細胞 扁平上皮癌

異型細胞が集塊や孤立散在性に見られる。N/C 比は高く、クロマチン増量や核形不整などを認める。角化異型細胞と深層型異型細胞が混在して認められ、扁平上皮癌が考えられる細胞像である。

設問4 正解： 判定区分 陰性

推定病変あるいは細胞 良性腺細胞(良性胆管上皮細胞)

清明な背景に、大型で辺縁に緩やかな凹凸のある集塊を認める。結合性は強く集塊辺縁からの細胞のほつれや核の突出は明らかではない。核間距離の不均等、不規則重積などの構造異型、大小不同、核形不整、クロマチン異常などの細胞異型も明らかではなく、良性腺細胞と考える。

胆管由来の腺癌は、細胞異型が軽度である場合もしばしばある。特に擦過で採取された細胞集塊は胆汁に比べて平面的な事も多いが、核の配列不整(極性の乱れ、核間距離の不均等、核の長軸の不整な並びなど)や集塊辺縁不整(細胞のほつれ、核の突出など)が重要な所見となる。本症例においては、いずれの所見も明らかではな

く、腺癌との鑑別は可能であると考え。

なお、今回提示した細胞像のみでは、正常であるのか、あるいは過形成などを含む良性変化であるのかを鑑別することは困難と考えられるため、「正常」、「良性」のどちらも正解とした。

**設問5** 正解： 判定区分 解なし(推定病変正解なら正解とする)

推定病変あるいは細胞 ワルチン腫瘍(Warthin tumor)

多数の小型リンパ球や顆粒状の蛋白物質を背景に、結合の強い上皮細胞集塊を認める。

集塊は、多辺形で顆粒状の胞体と中心性の円形核をもつ好酸性細胞からなる。

以上の所見から、ワルチン腫瘍を考える。

ワルチン腫瘍は耳下腺に好発する良性腫瘍であり、良性病変のため判定区分の正解は陰性であるが、腫瘍性病変のため陽性と判断もされるので、今回推定病変が正解であれば判定区分は正解とした。

**設問6** 正解： 判定区分 陰性

推定病変あるいは細胞 線維腺腫

弱拡大では多数の裸核細胞(双極裸核)を背景に、土管やシート状の乳管上皮細胞集塊を認める。強拡大では集塊内の乳管上皮細胞は、比較的配列が整い、核が濃染した筋上皮細胞を認める。以上の所見より、線維腺腫として矛盾しない細胞像と考える。

**設問7** 正解： 判定区分 解なし(推定病変正解なら正解とする)

推定病変あるいは細胞 髄膜腫

髄膜腫は髄膜皮細胞由来の腫瘍に分類され、髄膜皮細胞(クモ膜細胞)から発生する脳実質外腫瘍である。原発性脳腫瘍の約1/4を占め、最も多い腫瘍である。50~70歳代に発症のピークがあり、女性に多いとされている。今回提示した症例では結合性を有する渦巻状(whorl)構造を持つ細胞集塊を認め、強拡大にすると核中心性で微細顆粒状のクロマチンが均等分布しており、核縁の不整や不均等肥厚等は認められない。また、中心部分に砂粒体が認められる。

組織学的悪性度は、異型性の程度と組織亜型のタイプによってWHO grade I、II、IIIの3段階に分類されているが、今回の症例では核分裂像や明瞭な核小体、N/C比の増大等の所見は認められず、WHO分類のgrade Iに該当するものと考え。

鑑別診断として、Schwann 細胞腫や星細胞腫が挙げられるが、Schwann 細胞腫では結合性が強く、腫瘍細胞は周囲に小集塊や孤在性を認めず、核は楕円形~紡錘形で両端が尖っている点が鑑別点と考えられる。星細胞腫では結合性が弱く、腫瘍細胞が散在性に認められることや、髄膜腫に比してクロマチンの性状がやや粗であること等が鑑別点と考えられる。

**設問8** 正解：判定区分 悪性

推定病変あるいは細胞 乳頭癌

弱拡大で乳頭状の細胞集塊を認める。写真ではわかりにくいですが、集塊に砂粒小体もみられる。強拡大では、核の大小不同、核不整を認める。また、大型核に核内細胞質封入体を認める。以上より、甲状腺の乳頭癌と考える。

**【症例提供者】**

今川 奈央子 ・神戸大学医学部附属病院

太田 寛子 ・宝塚市立病院

小林 真 ・兵庫県臨床検査研究所

佐藤 元 ・兵庫医科大学病院

長岡 克也 ・公立豊岡病院

松木 慎一郎 ・兵庫県立尼崎総合医療センター

松林 謙治 ・明和病院

山下 展弘 ・神戸市立医療センター西市民病院

## 【フォトサーベイに関する講評】

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、判定区分では陰性、陽性の2つから1つを選択、また子宮頸部にはベセスダ分類を、乳腺については乳癌ガイドライン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、選択の幅が広がり回答が絞りにくなるものの、消去法による安易な選択回答や記載された回答項目に当てはまらないことがあった選択式より、臨床所見を加味しながら細胞をしっかりと観察し、細胞を読むという細胞診の基本概念に戻れると思われた。

今回の設問では判定区分に関して高い正答率であった。前回と同様に選択肢を2択にしたのもその1因と思われる。しかし設問2、4で良悪の判定を誤った施設があった。また、設問5、7では、選択肢を陽性・陰性にしていたため、病理と臨床の捉え方の違いにより選択に困惑を与えてしまった。これらは、推定病変が正解していれば、判定区分も正解とさせて頂いた。

推定病変に関しても高い正答率であった。選択式ではなく記述式のため同じ回答でも若干の違いが見られたが、多くは正解の範囲内であった。設問2、設問4において組織型間違いがあった。

施設により症例に偏りがあると思われるが一般的病院などで日常遭遇するであろう症例を8題出題している。

【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。

今後も判定区分は選択式でよいが、推定病変に関しては兵臨技のサーベイとして記述式を採用していきたいと考える。推定病変の回答は、規約が変更になると回答が変わる可能性があるが、しっかり最新の規約に対応するため必要な事と考える。

今回の設問では、子宮頸部2例・消化器3例、乳腺・神経系・甲状腺各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たらと考える。

判定区分における平均正答率は99.5%と高い正答率であった。今回も判定区分での入力ミスはなかった。しかし、脳腫瘍において、判定区分を陽性・陰性の選択肢にしたことにより、本来髄膜腫のGrade1の症例で細胞診断的には良性疾患ではあるが、臨床的に脳に腫瘍があるだけで陽性と判断もされるので、今回、推定病変が正解であれば判定区分はすべて正解とした。ワルチン腫瘍も同様に考えた。

推定病変における平均正答率は99.2%であった。誤字脱字は1件見られた。設問6で線維腺腫を線維線種と誤っていた。また、設問2では腺癌をヘルペス、また設問4では良性腺細胞を腺癌とした施設があった。これらの施設に対しては状況報告書にて訂正を行っている。

## 【おわりに】

今回かなり正答率がよく、満足できる内容であったが、良悪の判定を間違った施設があったので、これらは実際の現場では起きてはいけないことなので、精進して取り組んで頂きたい。また、出題側としても髄膜腫の判定区分のように紛らわしい選択肢を作らないよう注意していきたい。近年、細胞分野でもROSEが話題となっている。ベッドサイドで細胞検査士が判定を行わなければならない時代になってきており、細胞検査士の仕事が更に責任のある重要なものになってきていると痛感する。

細胞検査フォトサーベイ報告会は、阪神・神戸・東播地区、西播地区、丹但地区の3地区で開催を予定しているので、できる限り多くの会員の方々に参加していただき、各設問における解説と質疑応答の中から、今後生きる細胞像の見方を習得していただければ幸いである。

最後に、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技師の皆様にご礼申し上げます。

(文責:病理・細胞検査研究班)



表 1

回答 49 施設

| 設問 | 判定区分 |       | 推定病変 |       |
|----|------|-------|------|-------|
|    | 正答数  | 正答率   | 正答数  | 正答率   |
| 1  | 49   | 100%  | 49   | 100%  |
| 2  | 48   | 98%   | 48   | 98%   |
| 3  | 49   | 100%  | 49   | 100%  |
| 4  | 48   | 98%   | 48   | 98%   |
| 5  | 49   | 100%  | 49   | 100%  |
| 6  | 49   | 100%  | 48   | 98%   |
| 7  | 49   | 100%  | 49   | 100%  |
| 8  | 49   | 100%  | 49   | 100%  |
| 平均 | 49.0 | 99.5% | 49.0 | 99.2% |

表 2

回答 49 施設

| 設問 |              | 判定区分       |             |                          | 推定病変                              |                           |                   |
|----|--------------|------------|-------------|--------------------------|-----------------------------------|---------------------------|-------------------|
|    |              | NILM<br>陰性 | LSIL<br>疑陽性 | Adenocar<br>cinoma<br>陽性 | 1 位                               | 2 位                       | 3 位               |
| 1  | 回答数<br>(回答率) | 49(100%)   | 0(0%)       | 0(0%)                    | エクソダス<br>49(100%)                 | —                         | —                 |
| 2  | 回答数<br>(回答率) | 1(2%)      | 0(0%)       | 48(98%)                  | 腺癌<br>17(34.7%)                   | 類内膜腺癌<br>15(30.6%)        | 子宮体癌<br>12(24.5%) |
| 3  | 回答数<br>(回答率) | 0(0%)      |             | 49(100%)                 | 扁平上皮癌<br>49(100%)                 | —                         | —                 |
| 4  | 回答数<br>(回答率) | 48(98%)    |             | 1(2%)                    | 正常(良性)<br>胆管<br>上皮細胞<br>35(71.4%) | (良性)<br>腺上皮細胞<br>8(16.3%) | 腺癌<br>1(2.0%)     |
| 5  | 回答数<br>(回答率) | 48(98%)    |             | 1(2%)                    | ワルチン<br>腫瘍<br>49(100%)            | —                         | —                 |
| 6  | 回答数<br>(回答率) | 49(100%)   |             | 0(0%)                    | 線維腺腫<br>49(98.0%)                 | 線維線種<br>1(2.0%)           | —                 |
| 7  | 回答数<br>(回答率) | 39(79.6%)  |             | 10(20.4%)                | 髄膜種<br>49(100%)                   | —                         | —                 |
| 8  | 回答数<br>(回答率) | 0(0%)      |             | 49(100%)                 | 乳頭癌<br>49(100%)                   | —                         | —                 |

表 3

| NO | 施設番号    | 正解率  | NO | 施設番号    | 正解率  |
|----|---------|------|----|---------|------|
| 1  | 9280001 | 99%  | 26 | 9280140 | 100% |
| 2  | 9280002 | 100% | 27 | 9280143 | 100% |
| 3  | 9280003 | 100% | 28 | 9280146 | 100% |
| 4  | 9280007 | 88%  | 29 | 9280148 | 100% |
| 5  | 9280010 | 100% | 30 | 9280149 | 100% |
| 6  | 9280012 | 100% | 31 | 9280153 | 100% |
| 7  | 9280020 | 100% | 32 | 9280160 | 100% |
| 8  | 9280033 | 100% | 33 | 9280162 | 100% |
| 9  | 9280035 | 100% | 34 | 9280164 | 100% |
| 10 | 9280042 | 100% | 35 | 9280169 | 100% |
| 11 | 9280047 | 100% | 36 | 9280187 | 100% |
| 12 | 9280051 | 100% | 37 | 9280191 | 100% |
| 13 | 9280059 | 100% | 38 | 9280206 | 100% |
| 14 | 9280060 | 100% | 39 | 9280209 | 88%  |
| 15 | 9280083 | 100% | 40 | 9280237 | 100% |
| 16 | 9280091 | 100% | 41 | 9280280 | 100% |
| 17 | 9280092 | 100% | 42 | 9280322 | 100% |
| 18 | 9280095 | 100% | 43 | 9280369 | 100% |
| 19 | 9280099 | 100% | 44 | 9280390 | 100% |
| 20 | 9280100 | 100% | 45 | 9280417 | 100% |
| 21 | 9280115 | 100% | 46 | 9780014 | 100% |
| 22 | 9280117 | 100% | 47 | 9780032 | 100% |
| 23 | 9280125 | 100% | 48 | 9780060 | 100% |
| 24 | 9280130 | 100% | 49 | 9780066 | 100% |
| 25 | 9280135 | 100% |    |         |      |

# 免疫組織化学染色

# 令和元年度 免疫組織化学サーベイ報告

## 免疫組織化学染色(デスミン)

### 【はじめに】

デスミンは筋細胞系の細胞骨格を形成する中間径フィラメントである。正常あるいは腫瘍性の平滑筋細胞および骨格筋細胞に発現しており、筋上皮細胞には発現しない。腫瘍細胞などが筋細胞系であることを特定するマーカーとして有用である。

### 【材料および実施方法】

今回使用した検体は腸(手術材料;10%中性緩衝ホルマリン液固定)のパラフィン包埋ブロックで、各施設で適切な厚さに薄切し、染色を実施していただいた。

なお、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、ウェブ上に公開した所定の報告書に各施設で現在行っている染色方法の入力もお願いした。

また、一次抗体販売メーカーであるロシュ・ダイアグノスティクス株式会社(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社に同一検体を用いて染色していただき、その染色性を評価の基準とした。

### 【評価方法】

下記の事項を基準に判定した。

- ① 目的とする細胞、部位が染色されていること。
- ② 染色ムラや非特異反応がないこと。

以上の項目について、兵臨技・病理細胞検査研究班 解析委員で評価を行い、病理医の立場から伊藤智雄先生(神戸大学附属病院 病理部)にご確認頂いた。

評価は、『A. 診断上支障のない標本』、『B. 診断上支障はないが、改善が望まれる標本』、『C. 診断上支障をきたす標本』として、慎重に行った。

### 【結 果】

- 1) 申し込み施設33施設に対し、回収施設33施設(100%)であった。  
昨年のCK7の参加31施設に比べ2施設増加した。
- 2) デスミン染色の染色方法および日常業務でのデスミン染色についてのアンケートについての集計結果を別表に示した。

### 染色の評価結果および講評

令和元年度の免疫染色サーベイではデスミンをテーマに染色および評価を行った。

参加施設は33施設で、一次抗体メーカーとしてロシュ社、ライカ社、ニチレイ社、アジレント社の4社に協力をお願いした。

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、一次抗体メーカーと遜色のない染色を「A」、一次抗体メーカーよりも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判定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25施設、「B」が8施設という結果であった。

染色に自動染色装置を使用した施設が28施設(85%)、用手法は5施設(15%)であった。自動染色装置はロシュ社が18施設(64%)、ライカ社が8施設(28%)、ニチレイ社が1施設(4%)、アジレント社が1施設(4%)であった。用手法で用いる染色キットについてはニチレイ社が100%であった。用手法の5施設中3施設は染色性が弱いため「B」評価となった。これまでのサーベイでも自動染色装置を用いたほうが安定した結果を得やすいという結果であったが、2施設は「A」評価であり、条件設定や工夫によって補うことは可能と考えられる。

一次抗体についてはニチレイ社製(クローン:D33)を使用している施設が最も多く12施設(36%)、ロシュ社製(クローン:DE-R-11)が9施設(27%)、アジレント社製(クローン:D33)が6施設(18%)、ライカ社製(クローン:DE-R-11)が5施設(15%)であった。(4社以外の一次抗体を使用しているが、メーカーの記載がなかった施設が1施設)

今回のデスミン染色においては、いずれのメーカーに染色していただいた標本においても、若干の程度の差はあるものの、組織球や肥満細胞に非特異反応が認められた。これは回避する事が困難な反応と考えられるが、メーカーに比べ強い非特異反応を認めた施設については、改善が可能であると考えられることから「B」評価とした。今回「B」評価の理由となった染色性の弱さや非特異反応については、染色キット(染色装置)と一次抗体の組み合わせが関係しているとは言えないが、今回の評価には影響はなかったものの、ある特定の染色キットと一次抗体の組み合わせで上皮細胞への非特異反応が高頻度に認められた。免疫染色全般に言える事ではあるが、少しでも気になる事象があればメーカーと協議するなどして自施設での染色の特徴を把握し、評価することが重要と考える。本サーベイにおいてはデスミンの染色性のみを評価しているため、評価対象外の事象ではあるが、後染色のヘマトキシリンの染色性が弱いあるいは強すぎる、エオジンの着色(脱水系列にHE染色の系列を用いたためと推測される)などのため、観察しにくい標本があった。診断に適したきれいな標本作製のために、可能な限り対象抗原の染色性以外の点にも気を付けて染色を実施していただきたい。

以下に、参加施設の評価結果(表1)および各施設の染色に対する寸評(表2)を示す。

参加施設の評価結果(表1)

| 評価                  | AおよびB. 診断上支障のない標本  | C. 診断上支障をきたす標本 |
|---------------------|--|----------------|
| 標本数<br>(%)          | 33<br>100 %  | 0<br>0 %       |
| AおよびB<br>診断上支障のない標本 | 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。診断上支障のない標本である。        |                |
| C<br>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。または判定に影響のある染色ムラや非特異反応が見られる。診断上支障をきたす標本である。 |                |

## 【結 語】

デスミン染色の精度管理においては、参加していただいた33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。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。

(文責:病理細胞検査研究班、精度管理解析・編集委員)

## 令和元年度(第39回)兵臨技臨床検査精度管理

## デスミン免疫染色検査報告書(表2)

| 施設番号    | 評価 | 備考                              |
|---------|----|---------------------------------|
| 9280001 | A  |                                 |
| 9280002 | A  |                                 |
| 9280003 | A  | 上皮に軽度の非特異反応を認める。                |
| 9280033 | A  |                                 |
| 9280051 | B  | 染色性が弱い。                         |
| 9280059 | B  | 組織球にやや強めの非特異反応を認める。             |
| 9280083 | A  |                                 |
| 9280091 | A  |                                 |
| 9280092 | A  |                                 |
| 9280099 | A  |                                 |
| 9280100 | A  |                                 |
| 9280115 | A  |                                 |
| 9280117 | A  |                                 |
| 9280125 | A  | 上皮および間質に非特異反応を認める。              |
| 9280130 | A  |                                 |
| 9280135 | A  |                                 |
| 9280140 | A  |                                 |
| 9280143 | A  |                                 |
| 9280146 | A  |                                 |
| 9280148 | A  | 上皮に軽度の非特異反応を認める。                |
| 9280149 | A  | 上皮に軽度の非特異反応を認める。                |
| 9280162 | B  | 染色性が弱い。                         |
| 9280164 | A  | 組織の剥がれを認める。                     |
| 9280169 | B  | 組織球にやや強めの非特異反応を認める。             |
| 9280187 | B  | 染色性が弱い                          |
| 9280237 | A  | 核染色がやや弱い。                       |
| 9280280 | A  | 上皮に軽度の非特異反応を認める。                |
| 9280322 | B  | 組織球にやや強めの非特異反応を認める。染色性が弱い。      |
| 9280390 | A  |                                 |
| 9780014 | A  |                                 |
| 9780032 | B  | 染色性が弱い。                         |
| 9780060 | B  | 組織球にやや強めの非特異反応を認める。エオジンの着色を認める。 |
| 9780066 | A  | 上皮に軽度の非特異反応を認める。                |

## デスミン染色についての集計

1. 貴施設では1ヶ月何枚位、デスミン染色を実施していますか。

| 染色枚数   | 施設数 | %   |
|--------|-----|-----|
| 10枚以下  | 24  | 73% |
| 11～30枚 | 7   | 21% |
| 31～50枚 | 1   | 3%  |
| 51枚以上  | 1   | 3%  |

2. 何 $\mu\text{m}$ で薄切していますか。

| 厚さ ( $\mu\text{m}$ ) | 施設数 | %   |
|----------------------|-----|-----|
| ～3                   | 11  | 33% |
| ～4                   | 22  | 67% |

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 | 28  | 85% |
| 用手法    | 5   | 15% |

| 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          | 5   | 18% |
|          | ベンチマーク GX          | 5   | 18% |
|          | ベンチマーク ULTRA       | 8   | 28% |
| ライカ      | BOND MAX           | 3   | 10% |
|          | BOND III           | 5   | 18% |
| ニチレイ     | HISTOSTAINER 36A   | 1   | 4%  |
| アジレント    | Autostainer Link48 | 1   | 4%  |

(2) 使用試薬

【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 | 合計施設数 | %   |
|-------|---------|---------|--------|-------|-----|
| ロシュ   | DE-R-11 | 9       | 0      | 9     | 27% |
| ライカ   | DE-R-11 | 5       | 0      | 5     | 15% |
| ニチレイ  | D33     | 8       | 4      | 12    | 36% |
| アジレント | D33     | 5       | 1      | 6     | 18% |
| その他   | D33     | 1       | 0      | 1     | 3%  |

【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   | I-VIEW DAB ユニバーサルキット                        | 12      | 0      | 12    | 36% |
|       | ultraView DAB ユニバーサルキット                     | 6       | 0      | 6     | 18% |
| ライカ   | Bond Polymer Refine Detection               | 8       | 0      | 8     | 24% |
| ニチレイ  | ヒストファイン シンプルステイン<br>MAX-PO(MULTI)、DAB 基質キット | 1       | 5      | 6     | 18% |
| アジレント |   | 1       | 0      | 1     | 3%  |

(3) 染色プロトコール

【抗原賦活化】

| 一次抗体メーカー | 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 (High pH) | 2       | 0      |
|          | 酵素処理           | 6       | 0      |
|          | 処理なし           | 1       | 0      |
| ライカ      | 加熱処理 (High pH) | 2       | 0      |
|          | 加熱処理 (pH 6)    | 2       | 0      |
|          | 加熱処理 (pH 記載なし) | 1       | 0      |
| ニチレイ     | 加熱処理 (High pH) | 7       | 0      |
|          | 加熱処理 (pH 記載なし) | 0       | 1      |
|          | 処理なし           | 1       | 3      |
| アジレント    | 加熱処理 (High pH) | 2       | 0      |
|          | 加熱処理 (pH 6)    | 1       | 1      |
|          | 加熱処理 (pH 記載なし) | 1       | 0      |
| その他      | 加熱処理 (High pH) | 1       | 0      |

【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<br>染色装置 | ロシュ      | 希釈済み         | 16分             | 7   |
|             |          |              | 記載なし            | 2   |
|             | ライカ      | 100倍         | 32分             | 1   |
|             | ニチレイ     | 希釈済み         | 32分             | 4   |
|             |          |              | 記載なし            | 1   |
|             | アジレント    | 希釈済み         | 32分             | 1   |
|             |          |              | 100倍            | 32分 |
| その他         | 希釈済み     | 32分          | 1               |     |
| ライカ<br>染色装置 | ライカ      | 希釈済み         | 15分             | 2   |
|             |          | 50倍          | 15分             | 1   |
|             |          | 記載なし         | 15分             | 1   |
|             | ニチレイ     | 希釈済み         | 15分             | 1   |
|             |          | 希釈済みをさらに2倍希釈 | 15分             | 1   |
|             | アジレント    | 希釈済みをさらに5倍希釈 | 15分             | 1   |
|             |          | 200倍         | 15分             | 1   |
| ニチレイ        | ニチレイ     | 希釈済み         | 30分             | 1   |
| アジレント       | アジレント    | 記載なし         |                 | 1   |
| 用手法         | アジレント    | 500倍         | overnight (4°C) | 1   |
|             |          |              | 30分             | 2   |
|             | ニチレイ     | 希釈済み         | 40分             | 1   |
|             |          |              | 記載なし            | 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】

| 施設No    | 染色方法<br>(染色装置)     | 一次抗体<br>メーカー | 染色キット                         | 抗原賦活化              | 一次抗体の<br>希釈倍率 | 一次抗体の<br>反応時間 | 発色時間       | 評価 |
|---------|--------------------|--------------|-------------------------------|--------------------|---------------|---------------|------------|----|
| 9280083 | ペンチマー-クULTRA       | ロシユ          | I-VIEW DAB ユニバ-サルキット          | 加熱処理 (pH 8.5)      | 希釈済み抗体        |               |            | A  |
| 9280125 | ペンチマー-クULTRA       | ロシユ          | I-VIEW DAB ユニバ-サルキット          | 酵素処理               | 希釈済み抗体        | 16分           | 8分         | A  |
| 9280033 | ペンチマー-クULTRA       | ロシユ          | ultraView DAB ユニバ-サルキット       | 酵素処理               | 希釈済み抗体        | 16分           | 8分         | A  |
| 9280100 | ペンチマー-クULTRA       | ロシユ          | ultraView DAB ユニバ-サルキット       | 酵素処理               | 希釈済み抗体        | 16分           | 12分        | A  |
| 9280140 | ペンチマー-クULTRA       | ロシユ          | ultraView DAB ユニバ-サルキット       | 酵素処理               | 希釈済み抗体        |               |            | A  |
| 9280002 | ペンチマー-クULTRA       | ライカ          | I-VIEW DAB ユニバ-サルキット          | 加熱処理 (pH 8.5) 64分  | 100倍          | 32分           | 8分         | A  |
| 9280146 | ペンチマー-クULTRA       | アジレント        | I-VIEW DAB ユニバ-サルキット          | 加熱処理 (pH 8.5)      | 100倍          | 32分           | 8分         | A  |
| 9280148 | ペンチマー-クULTRA       | その他          | I-VIEW DAB ユニバ-サルキット          | 加熱処理 (pH 8.5)      | 希釈済み抗体        | 32分           | 8分         | A  |
| 9280092 | ペンチマー-クXT          | ロシユ          | ultraView DAB ユニバ-サルキット       | 酵素処理               | 希釈済み抗体        | 16分           | 8分         | A  |
| 9280130 | ペンチマー-クXT          | ロシユ          | ultraView DAB ユニバ-サルキット       | 酵素処理               | 希釈済み抗体        | 16分           | 4分         | A  |
| 9280003 | ペンチマー-クXT          | ニチレイ         | I-VIEW DAB ユニバ-サルキット          | 加熱処理 (pH 8.5) 60分  | 希釈済み抗体        | 32分           | 8分         | A  |
| 9280162 | ペンチマー-クXT          | ニチレイ         | I-VIEW DAB ユニバ-サルキット          | 加熱処理 (pH 8.5) 30分  | 希釈済み抗体        | 32分           | 8分         | B  |
| 9280001 | ペンチマー-クXT          | アジレント        | ultraView DAB ユニバ-サルキット       | 加熱処理 (pH 8.5) 60分  | 希釈済み抗体        | 32分           | 8分         | A  |
| 9280099 | ペンチマー-クGX          | ロシユ          | I-VIEW DAB ユニバ-サルキット          | 処理なし               | 希釈済み抗体        | 16分           | 8分         | A  |
| 9780066 | ペンチマー-クGX          | ロシユ          | I-VIEW DAB ユニバ-サルキット          | 加熱処理 (pH 8.5) 30分  | 希釈済み抗体        | 16分           | 8分         | A  |
| 9280149 | ペンチマー-クGX          | ニチレイ         | I-VIEW DAB ユニバ-サルキット          | 加熱処理 (pH 8.5) 60分  | 希釈済み抗体        | 32分           | 8分         | A  |
| 9280164 | ペンチマー-クGX          | ニチレイ         | I-VIEW DAB ユニバ-サルキット          | 加熱処理 (pH 8.5) 64分  | 希釈済み抗体        |               |            | A  |
| 9280280 | ペンチマー-クGX          | ニチレイ         | I-VIEW DAB ユニバ-サルキット          | 加熱処理 (pH 8.5) 60分  | 希釈済み抗体        | 32分           | 20分        | A  |
| 9280091 | BOND III           | ライカ          | BOND Polymer Refine Detection | 加熱処理 (pH 6) 20分    | 50倍           | 15分           | 10分        | A  |
| 9280117 | BOND III           | ライカ          | BOND Polymer Refine Detection | 加熱処理               | 希釈済み抗体        | 15分           | 10分        | A  |
| 9780060 | BOND III           | ライカ          | BOND Polymer Refine Detection | 加熱処理 (pH 9) 20分    | 希釈済み抗体        | 15分           | 10分        | B  |
| 9780032 | BOND III           | ニチレイ         | BOND Polymer Refine Detection | 加熱処理 (pH 9) 20分    | 希釈済み抗体を2倍希釈   | 15分           | 10分        | B  |
| 9280390 | BOND III           | アジレント        | BOND Polymer Refine Detection | 加熱処理               | 希釈済み抗体        | 15分           | 10分        | A  |
| 9280059 | BOND MAX           | ライカ          | BOND Polymer Refine Detection | 加熱処理 (pH 6) 20分    | 希釈済み抗体        | 15分           | 10分        | B  |
| 9780014 | BOND MAX           | ニチレイ         | BOND Polymer Refine Detection | 加熱処理 (pH 9) 20分    | 希釈済み抗体        | 15分           | 10分        | A  |
| 9280169 | BOND MAX           | アジレント        | BOND Polymer Refine Detection | 加熱処理 (pH 6) 20分    | 200倍          | 15分           | 10分        | B  |
| 9280135 | HISTOSTAINER 36A   | ニチレイ         | ヒストステイン ユニバ-サルキット             | 処理なし               | 希釈済み抗体        | 30分           | 5分         | A  |
| 9280237 | Autostainer Link48 | アジレント        |                               | 加熱処理               |               |               |            | A  |
| 9280051 | 用手法                | ニチレイ         | ヒストステイン ユニバ-サルキット             | 加熱処理 MW            | 希釈済み抗体        | 30分           | 2分         | B  |
| 9280115 | 用手法                | ニチレイ         | ヒストステイン ユニバ-サルキット             | 処理なし               | 希釈済み抗体        | 30分           | 2分         | A  |
| 9280143 | 用手法                | ニチレイ         | ヒストステイン ユニバ-サルキット             | 処理なし               | 希釈済み抗体        | 30分           | 5分         | A  |
| 9280187 | 用手法                | ニチレイ         | ヒストステイン ユニバ-サルキット             | 処理なし               | 希釈済み抗体        | 40分           | 陽性コントロール目安 | B  |
| 9280322 | 用手法                | アジレント        | ヒストステイン ユニバ-サルキット             | 加熱処理 (pH 6) 10分 AG | 500倍          | 一晚 (4°C)      | 陽性コントロール目安 | B  |

日常業務でのデスミン染色についての集計(以下、回答は32施設)

1. 固定液

| 固定液の種類        | 施設数 |
|---------------|-----|
| 10% 中性緩衝ホルマリン | 31  |
| 20% 中性緩衝ホルマリン | 1   |

2. 採取から固定までの時間

| 時間    | 施設数 |
|-------|-----|
| 直ちに   | 8   |
| 10分以内 | 3   |
| 30分以内 | 4   |
| 1時間以内 | 6   |
| 2時間以内 | 3   |
| 不明    | 8   |

3. 固定時間

| 固定時間   | 施設数 |
|--------|-----|
| 5時間以内  | 1   |
| 24時間以内 | 13  |
| 48時間以内 | 16  |
| 72時間以内 | 2   |

4. コントロールについて

|   | 施設数 | 自動染色 | 用手法 |
|---|-----|------|-----|
| 有 | 24  | 21   | 3   |
| 無 | 9   | 7    | 2   |

| 材料        | 施設数 |
|-----------|-----|
| マルチコントロール | 3   |
| 虫垂        | 7   |
| 大腸        | 5   |
| 小腸        | 2   |
| 胃         | 3   |
| 腸管        | 2   |
| 筋組織       | 1   |
| 血管        | 1   |

5. 染色のコツがあれば記入してください。

- ・I-VIEWからultraViewに変更した。
- ・薄切後の乾燥を60°C30分で行い、長時間放置を避ける。

6. 日常業務の免疫組織化学での悩みなどあればご記入してください

- ・陽性例の少ない抗体のコントロールの確保
- ・採取から固定までの時間が臨床任せで不明
- ・固定時間が48時間を超えないように週末、連休なども対応している
- ・赤血球が薄く茶色に染まることが多いので対策を教えてください
- ・抗原賦活処理(特に熱処理)を行うと切片が剥がれてしまう
- ・日によって多少の染色性の違いが出る
- ・使用中の抗体が発売中止になる

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。

- ・トランスサイレチン
- ・Napsin A