

病 理 檢 查

⑬病理組織

⑭免疫組織化学染色

⑮細胞診

⑬病理組織(グロコット染色)

【はじめに】

グロコット染色は真菌を証明する代表的な染色法である。開発から 60 年以上経過した現在でも、当時のままの手法で多くの施設で酸化剤に無水クロム酸(六価クロム)が使用されている。

メセナミン銀を用いた方法が一般的とされており、真菌の生死にかかわらず多種の真菌を染め出すことが可能で、検出されにくい放線菌、ノカルジアの菌糸、ニューモシスチス・イロベチーやムコールの菌体の証明に優れた染色法である。しかし、銀液の温度や反応時間の設定が困難であり、施行者間で染色性に差が生じやすいことが難点である。この施行者間での染色性の差を改善するために、アンモニア銀を用いた當銘法を使用している施設もある。何れの方法でも染色工程はおおまかに酸化、還元、反応、置換、定着、後染色となっている。

【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のパラフィンブロックで、4~5 μm に薄切した未染色スライド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グロコット染色をしていただいた。

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】

今回のグロコット染色のサーベイには 40 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 (真菌全体が黒く染色されていないか)
3. 背景結合組織まで褐色に染色されていないか
4. 背景に銀粒子の付着が認められないか
5. 背景(ライトグリーン)とのコントラスト

兵臨技・病理細胞研究班 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、共染や銀粒子の付着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・銀粒子の沈着を認める。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・銀粒子の沈着が強い。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 40 施設に対し、アンケート回収率は 40 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 16 施設(40.0%)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 13 施設(32.5%)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 11 施設(27.5%)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 病理検査(グロコット染色)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		
標本数(%)	16 (40.0)	13 (32.5)	11 (27.5)	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 病理検査(グロコット染色)評価一覧

施設番号	グロコット染色評価			
	A-a	A-b	B	C
9280125	○			
9280146		○		
9280010			○	
9780066			○	
9280130	○			

9280083		○		
9280117			○	
9280091	○			
9270069		○		
9280003	○			
9280169			○	
9280038			○	
9280060		○		
9280035	○			
9280322	○			
9280059		○		
9280100		○		
9280160	○			
9280124		○		
9280149	○			
9280140	○			
9780014		○		
9280148		○		
9280280			○	
9280237	○			
9280115	○			
9780032		○		
9280153	○			
9780060			○	
9280002		○		
9280033	○			
9280047		○		
9280143			○	
9280164			○	
9280390			○	
9280012			○	
9280099	○			
9280092	○			
9280051		○		
9280001	○			

【講評およびまとめ】

令和4年度の病理組織サーベイでは、グロコット染色をテーマとして評価を行った。

グロコット染色の染色枚数は30施設がひと月に0~5枚であり、平均的に実施数が少ない染色と考えられる。薄切厚は3~4 μm が28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、5~6 μm で薄切している施設が10施設、7 μm 以上で薄切している施設が1施設と比較的厚い標本でグロコット染色を実施している施設が見受けられた。切片が厚いと共染が生じやすく、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、今回のサーベイのアンケート結果も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(ベンタナ 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8施設(20%)であるが、グロコット染色に関しては用手法と比較して明らかな菌体への染色性の差はみられなかったものの、結合組織への共染の程度は大きかった。用手法と比較して銀液での反応時間や反応温度の設定の幅が限られていることや試薬の有効期限等に起因するものであろうと推察する。今回はこの点を考慮し評価した。

酸化については5%無水クロム酸(5%クロム酸も同一)を用いている施設が31施設(77.5%)と最も多く、5%重クロム酸が1施設(2.5%)であった。酸化が短すぎたり、長すぎたりすると菌体の染色性が低下するとされているが、いずれの酸化剤および酸化時間においても菌体の染色性に大きな差はみられず、今回のサーベイでは酸化工程の違いが染色性に直接影響を与えているかどうかの判断は困難であった。

還元については、用手法で染色している施設では全施設自家調製した亜硫酸水素ナトリウム水溶液を使用していた。濃度は全施設が1%で使用しており、反応時間も全施設1分であった。ベンチマーク SS を使用している施設は8施設で全施設60 $^{\circ}\text{C}$ 、4分の反応であった。今回のサーベイでも弱拡大である程度の共染を認める施設がいくつかあったが、これが還元工程での濃度や反応時間等に起因するものかどうかは今回のアンケート結果だけでは不明である。

銀液との反応については、用手法の施設ではメセナミン銀液を使用している施設が30施設(76.9%)、アンモニア銀液を使用している施設が2施設(5.1%)であった。いずれも自家調製であり、調製方法や反応温度、反応時間は施設ごとに様々であった。特にメセナミン銀液を使用している施設において反応温度が40 $^{\circ}\text{C}$ ~70 $^{\circ}\text{C}$ (温度に関して回答のなかった3施設を除く)、反応時間が3分~70分(3分の施設はMWを使用)という結果であった。反応温度に関しては予め予備加温をした状態で染色するのか、予備加温なしで染色するのかでも染色性に影響を与え、反応時間に関しては、ただ時間で判断するのか、時折染色性を確認しながら頃合いをみて反応を継続または中止するのかでも反応温度と同様に染色性に大きな影響を与えると考える。今回のサーベイおよびアンケートを通して、この銀液との反応が染色性に大きく影響し、グロコット染色を如何に共染なく綺麗に染色するかのポイントであることを再確認した。日常業務において染色性に悩んでおられる施設の方はA評価の施設の染色プロトコルを参考にさせていただきたいと考える。

ベンチマーク SS によるグロコット染色では、銀液との反応時間が唯一ユーザーによって変更できる工程である。しかし、今回の結果からは染色性や共染について反応時間の長さによる一定の傾向は見られなかった。つまり、反応時間が同じでも染色性や共染の程度に差があり、時間が長いから共染が強い、短いから染色性が弱い、という傾向は見られなかった。ベンチマーク SS における染色性や共染の差異については、あくまで推察ではあるが、銀液の温度(冷蔵から室温に戻り切っていない、など)、銀液の濃度変化(使用頻度、有効期限までの日数、など)などが関与している可能性がある。

調色(置換)については、用手法の施設では全施設において自家調製した塩化金水溶液を使用しており、濃度は 0.1%、0.2%、1.0%と様々であった。今回のサーベイでは菌体の染色性において大きな染色性の差がみられたが、アンケート結果を踏まえても調色(置換)の工程のみが原因と断定できるものはなかった。ベンチマーク SS を使用している施設は 2 施設で両施設とも 37°C、4 分の反応であり、こちらでも調色(置換)の工程のみが原因と考えられる染色性の差はみられなかった。

定着液については、用手法の施設ではチオ硫酸ナトリウム水溶液を使用しているのが 26 施設(65.0%)で最も多く、ついで写真用酸性硬膜定着液を使用しているのが 6 施設(15.0%)であった。チオ硫酸ナトリウムでは濃度が 0.2%~5.0%、反応時間も 1 分~5 分と様々であった。また写真用酸性硬膜定着液においても反応時間は 1 分~5 分と様々であったが、両者ともに染色性の差はみられず、今回のアンケート結果からは定着液が原因と考えられる染色性の差はみられなかった。

後染色は、用手法の施設では 30 施設(75.0%)がライトグリーン液、2 施設(5.0%)がライトグリーン SFY を使用していた。ライトグリーン SFY は若干黄色味がでるが、グロコット染色ではライトグリーン液を用いた場合と背景色が若干異なるのみで染色性自体に大差はみられなかった。ベンチマーク SS を使用している施設は 8 施設で、全施設専用試薬を使用しており、反応時間も同じで染色性の差はみられなかった。

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、参考にさせていただければ幸いです。

【結語】

グロコット染色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 40 施設中、29 施設(72.5%)という概ね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)

グロコット染色についてのアンケート結果(総数 40)

1. 貴施設では一ヶ月何枚位、グロコット染色を実施していますか？

染色枚数	施設数	%
0~5 枚	30	75
6~10 枚	7	17.5
11~50 枚	3	7.5
51~100 枚	0	0

2. 何 μm で薄切していますか？

薄切厚	施設数	%
1~2 μm	1	2.5
3~4 μm	28	70
5~6 μm	10	25
7 μm 以上	1	2.5

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		施設数	%
5%無水クロム酸 (5%クロム酸)	40 分	2	5.0
	45 分	1	2.5
	60 分	28	70.0
5%重クロム酸	40 分	1	2.5
GMS II Oxidizer	16 分	8	20

* GMS II Oxidizer は 60°Cで処理

還元		施設数	%
1%亜硫酸水素ナトリウム (重亜硫酸ナトリウム)	1 分	32	80.0
GMS II Neutral	4 分	8	20.0

* GMS II Neutral は 60°Cで処理

回答 39 施設

銀液との反応	反応温度	反応時間	施設数	%
アンモニア銀	50°C	5~10分	1	2.6
	60°C	20分	1	2.6
メセナミン銀	40°C~60°C	30分~70分	1	2.6
	45°C	36分	1	2.6
	50°C	15分	1	2.6
		40分	1	2.6
	52°C	40分	1	2.6
	55°C	20分	1	2.6
		24分	1	2.6
		30分 + 室温 10分	1	2.6
	56°C	70分	1	2.6
	58°C	30分	1	2.6
		60分	1	2.6
	60°C	3分(MW)	1	2.6
		16分	1	2.6
		20分	1	2.6
		25分	2	5.1
		30分	5	12.8
		45分	1	2.6
		50分	1	2.6
		60分	1	2.6
	62°C	13分	1	2.6
	65°C	40分	1	2.6
	70°C	45分~50分	1	2.6
	温度回答なし	13分	1	2.6
		25分	1	2.6
		60分	1	2.6
	GMS II 専用試薬	60°C	Silver A 4分/B 8分	2
Silver A 4分/B 12分			2	5.1
Silver A 4分/B 16分			3	7.7

調色(置換)		施設数	%
0.1%塩化金水溶液	1分	1	2.5
	3分	1	2.5
	4分	1	2.5
	5分	14	35.0
	10分	2	5.0
0.2%塩化金水溶液	1分	1	2.5
	2分	1	2.5
	3分	3	7.5
	2~5分	1	2.5
	5分	6	15.0
	15分	1	2.5
GMS II Toner	4分	8	20.0

* GMS II Toner は 37°Cで処理

定着		施設数	%
写真用酸性硬膜定着液	1分	2	5.0
	3分	3	7.5
	5分	1	2.5
0.2%チオ硫酸ナトリウム	5分	1	2.5
1%チオ硫酸ナトリウム	3分	1	2.5
2%チオ硫酸ナトリウム	1分	3	7.5
	2分	6	15.0
	3分	9	22.5
	5分	4	10.0
5%チオ硫酸ナトリウム	1分	1	2.5
	3分	1	2.5
GMS II Fixer	4分	8	20.0

* GMS II Fixer は 37°Cで処理

後染色	施設数	%	
ライトグリーン液 (濃度不明)	10秒～15秒	1	2.5
	30秒	3	7.5
	30～60秒	1	2.5
	1分	6	15.0
	90秒	1	2.5
	2分	2	5.0
	3分	1	2.5
	5分	2	5.0
	30分	1	2.5
0.04%ライトグリーン液	1分	1	2.5
0.12%ライトグリーン液	1～5分	1	2.5
0.2%ライトグリーン液	5秒	1	2.5
	10秒	1	2.5
	30秒	4	10.0
	1分	5	12.5
	記載なし	1	2.5
GMS II Lt Green	4分	8	20.0

* GMS II Lt Green は 37℃で処理

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】 (回答:33 施設)

試薬	メーカー	施設数	%
5%クロム酸液	武藤化学	14	42.4
無水クロム酸 (酸化クロム、三酸化クロム) (自家調製)	富士フィルム和光純薬	7	21.2
	ナカライテスク	1	3.0
	片山化学	1	3.0
	回答なし	2	6.1
GMS II Oxidizer (ベンチマーク SS 専用試薬)	ロシュ・ダイアグノスティックス	8	24.2

【還元液】（回答:32 施設）

試薬	メーカー	施設数	%
1%重亜硫酸ナトリウム液	武藤化学	4	12.5
1%亜硫酸水素ナトリウム液	武藤化学	2	6.3
亜硫酸水素ナトリウム (重亜硫酸ナトリウム) (自家調整)	富士フィルム和光純薬	10	31.3
	片山化学	2	6.3
	関東化学	1	3.1
	石津製薬	1	3.1
	ナカライテスク	1	3.1
	回答なし	3	9.4
GMS II Neutral (ベンチマーク SS 専用試薬)	ロシュ・ダイアグノスティックス	8	25.0

【銀液】（回答:39 施設）

試薬	メーカー	施設数	%
メテナミン銀調製セット	武藤化学	7	17.9
メテナミン銀液	武藤化学	1	2.6
アンモニア銀液	武藤化学	1	2.6
GMS II	ロシュ・ダイアグノスティックス	8	20.5
自家調製		22	56.4

〔銀液の自家調製に使用する試薬〕（回答:22 施設）

各使用試薬についての施設数および%を提示

試薬	メーカー	施設数	%	
メセナミン銀液	ヘキサメチレンテトラミン	富士フィルム和光純薬	10	47.6
		関東化学	4	19.0
		ナカライテスク	2	9.5
		片山化学	1	4.8
		シグマアルドリッチジャパン	1	4.8
		武藤化学	1	4.8
		回答なし	2	9.5
	硝酸銀	富士フィルム和光純薬	12	57.1
		関東化学	1	4.8
		ナカライテスク	2	9.5
		シグマアルドリッチジャパン	2	9.5
	メルク	1	4.8	

		回答なし	3	14.3
	ホウ砂 (四ホウ酸ナトリウム)	富士フィルム和光純薬	13	61.9
		関東化学	1	4.8
		片山化学	2	9.5
		メルク	1	4.8
		回答なし	4	19.0
ゼラチン	富士フィルム和光純薬	1	100	
アンモニア銀液	回答なし		1	

[メセナミン銀液の調製方法](代表的なものから抜粋)

- ・3%メセナミン液 100mL に 5%硝酸銀液 5mL を加え、メセナミン銀液(原液)とする。
- ・メセナミン銀液(原液)25mL に蒸留水 25mL と 5%ホウ砂水溶液 2mL を加え、メセナミン銀液(使用液)とする。

[アンモニア銀液の調製方法](代表的なものから抜粋)

- ・10%硝酸銀水溶液 5mL に 25%アンモニア水を滴下し、透明になったところで蒸留水 45mL を加える。

【調色(置換)】 (回答:38 施設)

試薬	メーカー	施設数	%
0.1%塩化金水溶液	武藤化学	6	15.8
0.2%塩化金水溶液	武藤化学	10	26.3
1%塩化金液	武藤化学	2	5.3
テトラクロロ金(Ⅲ)四水和物 (自家調製)	富士フィルム和光純薬	7	18.4
	片山化学	1	2.6
	シグマアルドリッチジャパン	1	2.6
	関東化学	1	2.6
	ナカライテスク	1	2.6
	回答なし	1	2.6
GMS II Toner (ベンチマーク SS 専用試薬)	ロシュ・ダイアグノスティックス	8	21.1

【定着】（回答:37 施設）

試薬	メーカー	施設数	%
写真用酸性硬膜定着液	武藤化学	5	13.5
	自院放射線科から入手	1	2.7
2%チオ硫酸ナトリウム	武藤化学	6	16.2
5%チオ硫酸ナトリウム	武藤化学	1	2.7
チオ硫酸ナトリウム （自家調製）	富士フィルム和光純薬	9	24.3
	片山化学	3	8.1
	関東化学	1	2.7
	石津製薬	1	2.7
	ナカライテスク	1	2.7
	回答なし	1	2.7
GMS II Fixer （ベンチマーク専用試薬）	ロシュ・ダイアグノスティックス	8	21.6

【後染色】（回答:32 施設）

試薬	メーカー	施設数	%
0.2%ライトグリーン液	武藤化学	13	40.6
ライトグリーン SF イエロー （自家調整）	富士フィルム和光純薬	2	6.3
ライトグリーン （自家調製）	富士フィルム和光純薬	4	12.5
	CHROMA	2	6.3
	MERCK	1	3.1
	WALDECK	1	3.1
	回答なし	1	3.1
GMS II Lt Green （ベンチマーク専用試薬）	ロシュ・ダイアグノスティックス	8	25.0

〔ライトグリーン液の調整方法〕(代表的なものから抜粋)

・蒸留水 100mL にライトグリーン 0.2g と氷酢酸 0.2mL を溶解する。

《A-a 評価プロトコール(用手法)》

* 脱パラフィンに関してはアンケート項目に含まれていないため記載なし

【メセナミン銀液使用施設】

1 脱パラフィン	
2 水洗	
③ 酸化	5%無水クロム酸 60分
④ 水洗	流水水洗 5分 → 蒸留水になじませる
⑤ 還元	1%亜硫酸水素ナトリウム 1分
⑥ 水洗	流水水洗 5分 → 蒸留水になじませる
⑦ 銀液との反応	メセナミン銀液 70℃ 45~50分 予備加温なし 適宜顕微鏡下で染色性を確認しながら実施
⑧ 水洗	蒸留水
⑨ 調色(置換)	0.1%塩化金 10分
⑩ 水洗	蒸留水
⑪ 定着	1%チオ硫酸ナトリウム 3分
⑫ 水洗	流水水洗 5分 → 蒸留水になじませる
⑬ 後染色	0.12%ライトグリーン 1~5分
⑭ 脱水・透徹	上昇系列アルコール 5槽 → キシレン 4槽
⑮ 封入	疎水性封入剤

【アンモニア銀液使用施設】

1 脱パラフィン	
2 水洗	
③ 酸化	5%無水クロム酸 60分
④ 水洗	流水水洗(軽く)
⑤ 還元	1%亜硫酸水素ナトリウム 1分
⑥ 水洗	流水水洗 → 蒸留水になじませる
⑦ 銀液との反応	アンモニア銀液 60℃ 10~30分 適宜顕微鏡下で染色性を確認し、菌体の細胞壁が黒色になるまで反応させる
⑧ 水洗	蒸留水
⑨ 定着	5%チオ硫酸ナトリウム 1分
⑩ 水洗	流水水洗 → 蒸留水
⑪ 調色(置換)	0.2%塩化金 10秒~1時間(10秒を標準とする) 染色性が弱い場合は長め(時間を長くするほど染色性が強くなる)
⑫ 水洗	流水水洗
⑬ 定着	5%チオ硫酸ナトリウム 1分

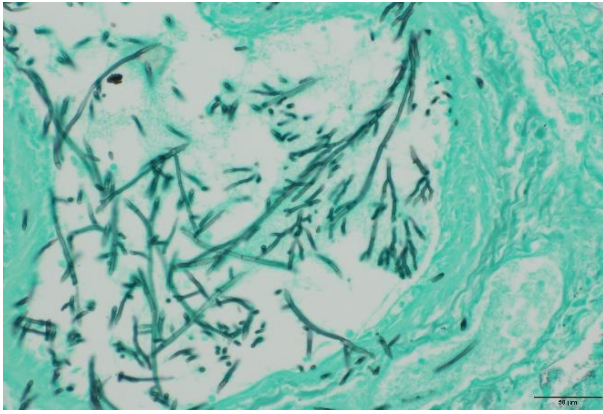
⑭ 後染色	0.2%ライトグリーン 30秒～1分
⑮ 水洗	流水水洗
⑯ 脱水・透徹	上昇系列アルコール 5槽 → キシレン 4槽
⑰ 封入	疎水性封入剤

《A-a プロトコール(自動染色装置使用)》

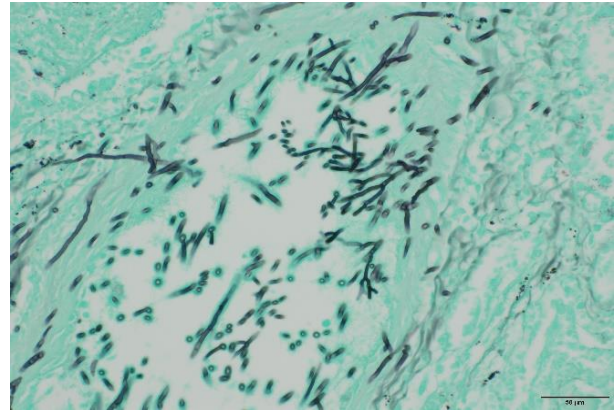
染色装置での染色のため、染色工程途中の水洗に関して記載なし

1 脱パラフィン	
2 水洗	
③ 酸化	GMS II Oxidizer 60°C 16分
④ 水洗	
⑤ 還元	GMS II Neutral 60°C 4分
⑥ 水洗	
⑦ 銀液との反応	GMS II Silver A 60°C 4分 → Silver B 60°C 16分
⑧ 水洗	
⑨ 調色(置換)	GMS II Toner 37°C 3分
⑩ 水洗	
⑪ 定着	GMS II Fixer 37°C 4分
⑫ 水洗	
⑬ 後染色	GMS II Lt Green 37°C 4分
⑭ 脱水・透徹	
⑮ 封入	

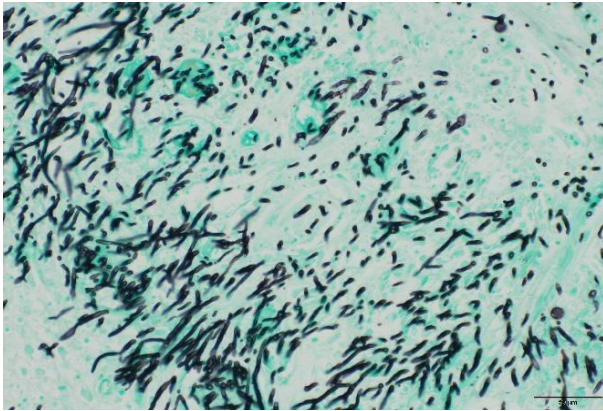
病理検査サーベイ: グロコット染色



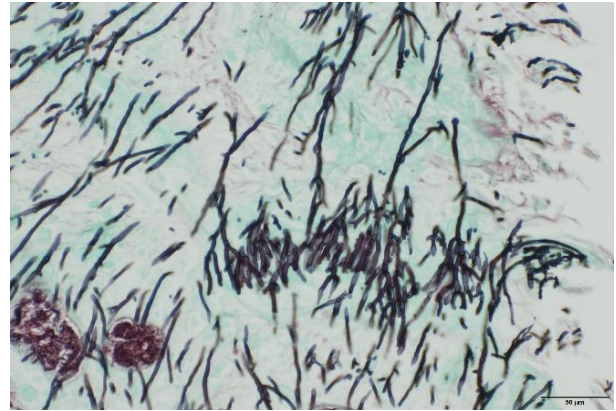
A-a評価: メセナミン銀使用(用手法)



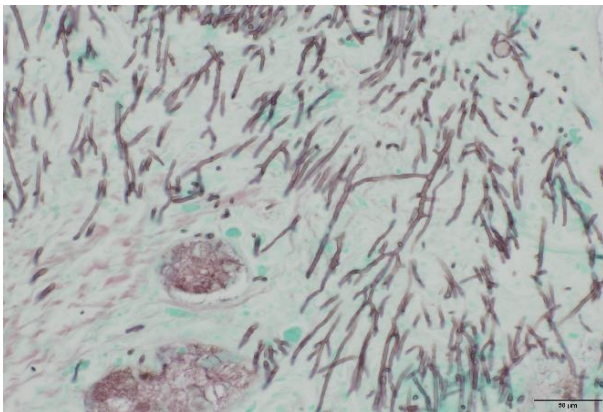
A-a評価: アンモニア銀使用(用手法)



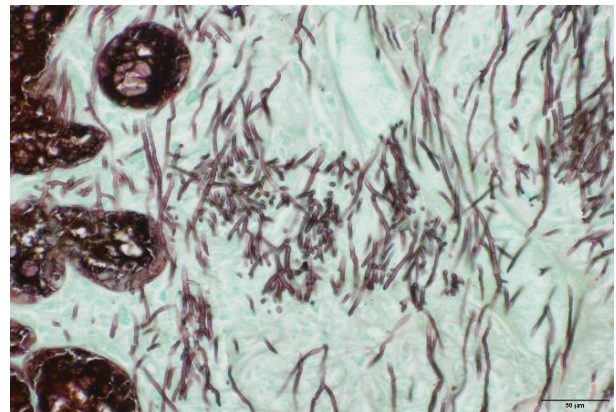
A-a評価: 自動染色装置



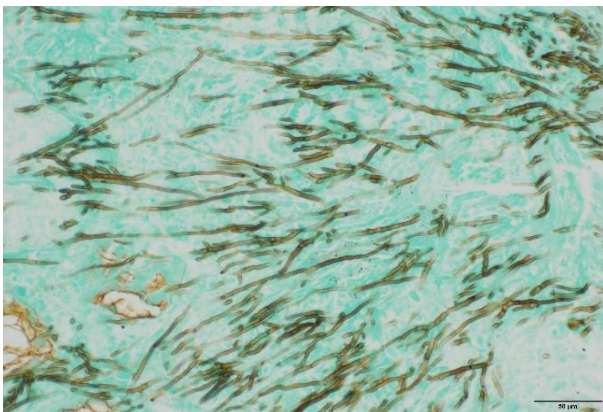
A-b評価: メセナミン銀使用(用手法)



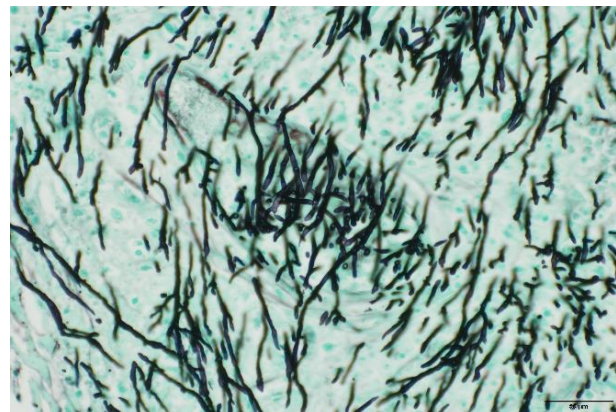
A-b評価: アンモニア銀使用(用手法)
菌体の染色が弱い



A-b評価: 自動染色装置
菌体の染色が弱い



B評価: メセナミン銀使用(用手法)
菌体が黒色に染色されていない



B評価: 自動染色装置
菌体は黒色に染色されているが、菌体内の隔壁が明瞭に観察できず、結合織への共染もみられる

⑭免疫組織化学染色（Estrogen Receptor : ER）

【はじめに】

Estrogen Receptor (ER)とはステロイド受容体スーパーファミリーに属する分子の一つである。卵胞ホルモン受容体とも呼ばれる。そもそもエストロゲンとはエストロン(E1)、エストラジオール(E2)およびエストリオール(E3)の3種類の分子を指しており、いずれもERとの結合能を有するが、中でも生体における産生量はE2が多い。エストロゲンはステロイドホルモンの一種であり、生殖機能の形成および細胞の増殖を促進する働きを持つ。その生理作用を発現するためには標的組織に存在しているERへの結合を介する必要がある。ERIに対してリガンドが結合するとERは活性化を受けてDNAへの結合が促進され、遺伝子の転写を制御する転写因子として機能する。また、植物中に含まれるイソフラボンなどの分子(植物性エストロゲン)や内分泌攪乱物質もERIに対して結合能を有し、作用を発現することが知られている。

乳癌に対しては、複数のメーカーより体外診断医薬品として市販されており、それぞれ推奨されている染色方法がある。ER(またPR)陽性であれば術後内分泌療法の適応ありと判断される。

乳癌症例における判定法:

1. 癌細胞の10%以上に核陽性所見が得られれば、陽性判定とする。
2. 陽性判定の基準を5%あるいは1%としている施設もある。
3. 進行・再発乳癌では<10%でも陽性細胞があればホルモン療法を選択したい場合があるので、判定の際配慮(境界域とするなど)が必要である。
4. 非浸潤癌症例における実施の有用性、浸潤性乳癌において非浸潤癌成分の染色性を判定に含めるべきか、については今後の検討を要する。
5. 陽性細胞占有率と染色強度を組み合わせたAllred法も用いられている。
6. HE染色標本と対比し、取り込まれた正常乳腺組織などを過剰判定しないように注意する。

1. 判定スコア	2. 判定区分
Score 0 : 陰性	陰性 : Score 0
Score 1 : 陽性細胞占有率 1/100 未満	境界域 : Score 1,2
Score 2 : 陽性細胞占有率 1/100 以上 1/10 未満	陽性 : Score 3
Score 3 : 陽性細胞占有率 1/10 以上	

Allred score の概要

Total score (TS) = Proportion score (PS) : 染色細胞割合 + Intensity score (IS) : 染色強度

PS は 0-5 点、IS は 0-3 点、TS は 0, 2-8 点となる。オリジナルの論文では TS3 以上を陽性としている。

最初に PS を判定し、その後優勢となる IS(または平均)を採用する。

PS	IS
0: 染色性なし	0: 陰性
1: 1%未満	1: 弱染色性
2: 1% - 10%未満	2: 中間染色性
3: 10% - 1/3 未満	3: 強染色性
4: 1/3 - 2/3 未満	
5: 2/3 以上	

J-score の概要

乳癌細胞のうち、ER 陽性細胞の占める割合をスコア化する。

スコア	陽性細胞占有率
Score 0	0%
Score 1	1%未満
Score 2	1%以上～10%未満
Score 3A	10%以上 50%未満
Score 3B	50%以上

原発性乳癌以外における使用法の例

1. 転移・再発乳癌におけるホルモン治療施行の適応判定。
2. 原発不明癌における原発巣の推定(陽性は乳癌の絶対的証拠にはならないが比較的特異性は高い)。皮膚汗腺由来の癌でも陽性となるので注意。
3. 子宮内膜型腺癌(ER 陽性)と内頸部型腺癌(ER 陰性)の鑑別

(一般社団法人ひょうご病理ネットワーク いむーの「ER」の項を参照)

【試料および方法】

今回使用した試料は市販のコントロールスライド(HistoCyte Laboratories社、Breast Analyte Control)で、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。

【参加施設数】

今回のER染色のサーベイには35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35施設に対し、アンケート回収施設35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29施設(82.9%)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6施設(17.1%)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 (ER) 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	29	6	0
(%)	82.9 %	17.1 %	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（ER）評価一覧

施設番号	評価	寸評
9280125	A	
9280146	A	
9780066	B	ヘマトキシリン染色が濃い
9280130	A	
9280083	A	
9280091	A	
9270069	A	
9280003	A	
9280035	A	封入不良
9280100	A	
9280149	A	
9280140	B	ヘマトキシリン染色が濃い
9280095	A	
9280148	A	
9280280	A	
9280237	A	
9780032	A	
9280002	A	
9280033	B	ヘマトキシリン染色が濃い
9280164	B	ヘマトキシリン染色が濃い
9280099	A	
9280092	A	
9280001	A	
9280117	A	
9280169	B	染色性が薄い
9280038	A	
9280322	A	
9280124	A	
9780014	A	
9780060	A	
9280047	B	過染色あり
9280390	A	
9280417	A	
9280143	A	

【講評およびまとめ】

令和4年度の免疫組織化学染色サーベイでは、ER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29施設、「B」が6施設、「C」が0施設という結果であった。

今回配布したコントロールスライドには、ER(+)が1つ、ER(-)が1つの合計2つのスポットがあった。ER(+)スポ

ットでは、基準となるスコアがないため、各一次抗体メーカーの染色性を参考とした。ER(-)スポットではいずれのメーカーも過染色はなかった。ER染色は核内抗原を染色するため、カウンター染色とのコントラストも評価対象とした。

今回「B」評価であった6施設のうち、ER(+)スポットが過染色であった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(Clone: SP1)を使用して染色していた。ER(+)スポットの染色性が弱い1施設は、ライカ社の自動免疫染色装置で、アジレント社の抗体(Clone: EP1)を使用して染色していた。ヘマトキシリン染色が濃いとされた4施設は、いずれもロシュ社の自動免疫染色装置で、抗体もロシュ社(Clone: SP1)のものを使用していた。ヘマトキシリン染色を自動染色プロトコールに設定しておらず、用手法で行っていると考えられるが、今回のアンケートでは、ヘマトキシリン染色の時間について情報収集しておらず、どれくらいの時間で染色しているかは不明であった。

ERIは評価をスコアリングで行うため、染色性の強度が診断や治療効果の予測に影響する。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、ERI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ー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ー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2施設、メーカーの推奨と異なるプロトコールで染色している施設が1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、推奨プロトコー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】

ER 染色の精度管理における結果は、参加していただいた 35 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)

ER 染色方法についての集計

1. 貴施設では1ヶ月何枚位、ER 染色を実施していますか。

染色枚数	施設数	%
10 枚以下	11	31.4
11～30 枚	12	34.3
31～50 枚	6	17.1
51 枚以上	6	17.1

2. 何 μm で薄切していますか。

厚さ (μm)	施設数	%
2	0	0
~3	9	25.7
~4	23	65.7
~5	3	8.6

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	33	94.3
用手法	2	5.7

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	2	6.1
	ベンチマーク GX	7	21.2
	ベンチマーク ULTRA	14	42.4
ライカ	BOND MAX	7	21.2
	BOND III	3	9.1

(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	EP1	1	0	1	2.9
ロシュ	SP1	23	0	23	65.7
ライカ	6F11	8	0	8	22.9
ニチレイ	SP1	1	2	3	8.6

【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	23	0	23	65.7
ライカ	Bond Polymer Refine Detection	10	0	10	28.6
ニチレイ	ヒストファイン シンプルステイン MAX-PO (MULTI)	0	2	2	5.7

(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	22	0
	加熱処理 CC1 buffer (pH 8.5) 32 分 or 30 分	1	0
ライカ	加熱処理 ER1 (pH 6.0) 30 分	1	0
	加熱処理 ER2 (pH 9.0) 20 分	9	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	0	2

【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	7
			24 分	1
			30 分 or 32 分	13
		記載なし	記載なし	1
ライカ染色装置	ライカ	希釈済み	15 分	2
		100 倍	15 分	1
		200 倍	15 分	1
		300 倍	15 分	1
		その他	15 分	2
		30 分	1	
	アジレント	その他	15 分	1
ニチレイ	2 倍	15 分	1	
用手法	ニチレイ	希釈済み	30 分	2

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 (染色装置)	染色キット	抗原賦活化	一次抗体メー カー	一次抗体クローン	一次抗体希釈倍率	一次抗体反応時間	評価	寸評	
Roche 推奨プロトコール	Roche ベンチマーク	ultraView DAB 2.2.0 ^レ -98キット	CC1 ^レ 777 ^レ [pH8.5]	【ロシュ】 64分 (60分も含む)	ロシュ	SP1	希釈済み (そのまま使用)	【ロシュ】 32分 (30分も含む) 【ロシュ】 16分 (15分も含む)		
9280125	ベンチマーク ULTRA	ultraView DAB 2.2.0 ^レ -98キット	CC1 ^レ 777 ^レ [pH8.5]	【ロシュ】 64分 (60分も含む)	ロシュ	SP1	希釈済み (そのまま使用)	【ロシュ】 32分 (30分も含む)	A	
9280146	ベンチマーク ULTRA	ultraView DAB 2.2.0 ^レ -98キット	CC1 ^レ 777 ^レ [pH8.5]	【ロシュ】 64分 (60分も含む)	ロシュ	SP1	希釈済み (そのまま使用)	【ロシュ】 32分 (30分も含む)	A	
9780066	ベンチマーク GX	ultraView DAB 2.2.0 ^レ -98キット	CC1 ^レ 777 ^レ [pH8.5]	【ロシュ】 64分 (60分も含む)	ロシュ	SP1	希釈済み (そのまま使用)	【ロシュ】 32分 (30分も含む)	B	ヘマトキシリン濃い
9280130	ベンチマーク ULTRA	ultraView DAB 2.2.0 ^レ -98キット	CC1 ^レ 777 ^レ [pH8.5]	【ロシュ】 64分 (60分も含む)	ロシュ	SP1	希釈済み (そのまま使用)	【ロシュ】 16分 (15分も含む)	A	
9280083	ベンチマーク ULTRA	ultraView DAB 2.2.0 ^レ -98キット	CC1 ^レ 777 ^レ [pH8.5]	【ロシュ】 64分 (60分も含む)	ロシュ	SP1	希釈済み (そのまま使用)	【ロシュ】 32分 (30分も含む)	A	
9280091	ベンチマーク ULTRA	ultraView DAB 2.2.0 ^レ -98キット	CC1 ^レ 777 ^レ [pH8.5]	【ロシュ】 64分 (60分も含む)	ロシュ	SP1	希釈済み (そのまま使用)	【ロシュ】 32分 (30分も含む)	A	
9270069	ベンチマーク XT	ultraView DAB 2.2.0 ^レ -98キット	CC1 ^レ 777 ^レ [pH8.5]	【ロシュ】 64分 (60分も含む)	ロシュ	SP1	希釈済み (そのまま使用)	【ロシュ】 32分 (30分も含む)	A	
9280003	ベンチマーク ULTRA	ultraView DAB 2.2.0 ^レ -98キット	CC1 ^レ 777 ^レ [pH8.5]	【ロシュ】 64分 (60分も含む)	ロシュ	SP1	希釈済み (そのまま使用)	【ロシュ】 32分 (30分も含む)	A	
9280035	ベンチマーク GX	ultraView DAB 2.2.0 ^レ -98キット	CC1 ^レ 777 ^レ [pH8.5]	【ロシュ】 64分 (60分も含む)	ロシュ	SP1	希釈済み (そのまま使用)	【ロシュ】 16分 (15分も含む)	A	封入不良
9280100	ベンチマーク ULTRA	ultraView DAB 2.2.0 ^レ -98キット	CC1 ^レ 777 ^レ [pH8.5]	【ロシュ】 64分 (60分も含む)	ロシュ	SP1	希釈済み (そのまま使用)	【ロシュ】 32分 (30分も含む)	A	
9280149	ベンチマーク GX	ultraView DAB 2.2.0 ^レ -98キット	CC1 ^レ 777 ^レ [pH8.5]	【ロシュ】 64分 (60分も含む)	ロシュ	SP1	希釈済み (そのまま使用)	【ロシュ】 16分 (15分も含む)	A	
9280140	ベンチマーク ULTRA	ultraView DAB 2.2.0 ^レ -98キット	CC1 ^レ 777 ^レ [pH8.5]	【ロシュ】 64分 (60分も含む)	ロシュ	SP1	希釈済み (そのまま使用)	【ロシュ】 32分 (30分も含む)	B	ヘマトキシリン濃い
9280095	ベンチマーク GX	ultraView DAB 2.2.0 ^レ -98キット	CC1 ^レ 777 ^レ [pH8.5]	【ロシュ】 64分 (60分も含む)	ロシュ	SP1	希釈済み (そのまま使用)	【ロシュ】 32分 (30分も含む)	A	
9280148	ベンチマーク ULTRA	ultraView DAB 2.2.0 ^レ -98キット	CC1 ^レ 777 ^レ [pH8.5]	【ロシュ】 64分 (60分も含む)	ロシュ	SP1	希釈済み (そのまま使用)	【ロシュ】 32分 (30分も含む)	A	
9280280	ベンチマーク ULTRA	ultraView DAB 2.2.0 ^レ -98キット	CC1 ^レ 777 ^レ [pH8.5]	【ロシュ】 64分 (60分も含む)	ロシュ	SP1	希釈済み (そのまま使用)	【ロシュ】 32分 (30分も含む)	A	
9280237	ベンチマーク ULTRA	ultraView DAB 2.2.0 ^レ -98キット	CC1 ^レ 777 ^レ [pH8.5]	【ロシュ】 64分 (60分も含む)	ロシュ	SP1	希釈済み (そのまま使用)	【ロシュ】 16分 (15分も含む)	A	
9780032	ベンチマーク ULTRA	ultraView DAB 2.2.0 ^レ -98キット	CC1 ^レ 777 ^レ [pH8.5]	【ロシュ】 64分 (60分も含む)	ロシュ	SP1	希釈済み (そのまま使用)	【ロシュ】 16分 (15分も含む)	A	
9280002	ベンチマーク ULTRA	ultraView DAB 2.2.0 ^レ -98キット	CC1 ^レ 777 ^レ [pH8.5]	【ロシュ】 64分 (60分も含む)	ロシュ	SP1	希釈済み (そのまま使用)	【ロシュ】 16分 (15分も含む)	A	
9280033	ベンチマーク ULTRA	ultraView DAB 2.2.0 ^レ -98キット	CC1 ^レ 777 ^レ [pH8.5]	【ロシュ】 64分 (60分も含む)	ロシュ	SP1	希釈済み (そのまま使用)	24分	B	ヘマトキシリン濃い
9280164	ベンチマーク GX	ultraView DAB 2.2.0 ^レ -98キット	CC1 ^レ 777 ^レ [pH8.5]	【ロシュ】 32分 (30分も含む)	ロシュ	SP1	希釈済み (そのまま使用)	10分	B	ヘマトキシリン濃い
9280099	ベンチマーク GX	ultraView DAB 2.2.0 ^レ -98キット	CC1 ^レ 777 ^レ [pH8.5]	【ロシュ】 64分 (60分も含む)	ロシュ	SP1	希釈済み (そのまま使用)	【ロシュ】 32分 (30分も含む)	A	
9280092	ベンチマーク XT	ultraView DAB 2.2.0 ^レ -98キット	CC1 ^レ 777 ^レ [pH8.5]	【ロシュ】 64分 (60分も含む)	ロシュ	SP1	希釈済み (そのまま使用)	【ロシュ】 32分 (30分も含む)	A	
9280001	ベンチマーク GX	ultraView DAB 2.2.0 ^レ -98キット	CC1 ^レ 777 ^レ [pH8.5]	【ロシュ】 64分 (60分も含む)	ロシュ	SP1	希釈済み (そのまま使用)	【ロシュ】 16分 (15分も含む)	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】 20分	ライカ	6F11	希釈済み (そのまま使用)	【ライカ】 15分		
9280117	BOND III	Bond Polymer Refine Detection	BOND Epitope Retrieval Solution 2 [pH9]	【ライカ】 20分	ライカ	6F11	2 0 0 倍希釈	【ライカ】 15分	A	
9280169	BOND MAX	Bond Polymer Refine Detection	BOND Epitope Retrieval Solution 2 [pH9]	【ライカ】 20分	アジレント	EP1	その他	【ライカ】 15分	B	染色性薄い
9280038	BOND MAX	Bond Polymer Refine Detection	BOND Epitope Retrieval Solution 2 [pH9]	【ライカ】 20分	ライカ	6F11	希釈済み (そのまま使用)	【ライカ】 15分	A	
9280322	BOND MAX	Bond Polymer Refine Detection	BOND Epitope Retrieval Solution 2 [pH9]	【ライカ】 20分	ライカ	6F11	希釈倍率 ×300	【ライカ】 15分	A	
9280124	BOND MAX	Bond Polymer Refine Detection	BOND Epitope Retrieval Solution 2 [pH9]	【ライカ】 20分	ライカ	6F11	100倍	【ライカ】 15分	A	
9780014	BOND MAX	Bond Polymer Refine Detection	BOND Epitope Retrieval Solution 2 [pH9]	【ライカ】 20分	ライカ	6F11	その他	【ライカ】 15分	A	
9780060	BOND III	Bond Polymer Refine Detection	BOND Epitope Retrieval Solution 2 [pH9]	【ライカ】 20分	ライカ	6F11	希釈済み (そのまま使用)	【ライカ】 15分	A	
9280047	BOND MAX	Bond Polymer Refine Detection	BOND Epitope Retrieval Solution 2 [pH9]	【ライカ】 20分	ニチレイ	SP1	2 倍希釈	【ライカ】 15分	B	過染色
9280390	BOND III	Bond Polymer Refine Detection	BOND Epitope Retrieval Solution 2 [pH9]	【ライカ】 20分	ライカ	6F11	その他	【ライカ】 15分	A	
9280417	BOND MAX	Bond Polymer Refine Detection	BOND Epitope Retrieval Solution 1 [pH6]	【ライカ】 30分	ライカ	6F11	その他	【ライカ】 30分	A	
ニチレイ 推奨プロトコール	用手法	ヒストファインショップ 60分 MAX- PO(MULTI)・DAB基質キット	抗原賦活液pH9 (ニチレイ)	40分	ニチレイ	SP1	希釈済み (そのまま使用)	【ニチレイ】 30分		
9280143		ヒストファインショップ 60分 MAX- PO(MULTI)・DAB基質キット	抗原賦活液pH9 (ニチレイ)	40分	ニチレイ	SP1	希釈済み (そのまま使用)	【ニチレイ】 30分	A	
9280051		ヒストファインショップ 60分 MAX- PO(M)・DAB基質キット	抗原賦活液pH9 (ニチレイ)	MW5分×2 7 077-β 溶液 (ニチレイ) 2~3分	ニチレイ	SP1	希釈済み (そのまま使用)	【ニチレイ】 30分	A	

ER 染色についてのアンケート結果（総数 35）

1. 固定液

固定液の種類	施設数
10% 中性緩衝ホルマリン	34
記載なし	1

2. 採取から固定までの時間

時間	施設数
直ちに	29
10 分以内	2
30 分以内	1
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
5 時間以内	0
12 時間以内	3
24 時間以内	20
48 時間以内	9
72 時間以内	3

（手術材料）

固定時間	施設数
5 時間以内	0
12 時間以内	2
24 時間以内	2
48 時間以内	21
72 時間以内	10

4. コントロールの有無

	施設数	自動染色	用手法
あり	29	27	2
なし	6	6	0

コントロールの材料

材料	施設数
乳腺	18
乳癌 (ER+)	6
子宮体部	1
子宮	1
既知の陽性組織	1
子宮類内膜癌	1
記載なし	1

5. 染色のコツがあれば記入してください。

- ・核染が手染めなので、ERは核に発色するため薄めに染めている。(ベンチマークで染色)
- ・前処理にスキムミルクを通してしている。(ベンチマークで染色)
- ・一次抗体を入れた後、よく混和をする。(ライカで染色)
- ・手術材料など大きい切片はややはがれやすい傾向があるので長めに乾燥させている。(ベンチマークで染色)
- ・コントロールと一緒に載せて染色性を確認している。(ベンチマークで染色)
- ・乾燥は60°C30分間とし、長時間乾燥するのは避ける。(ベンチマークで染色)
- ・固定時間が6-72時間になるよう厳守している。
- ・親水性のコーティングスライドを使用し、切片がはがれないようにしている。
- ・染色前の恒温槽での標本乾燥時間が長くなりすぎないようにしている。

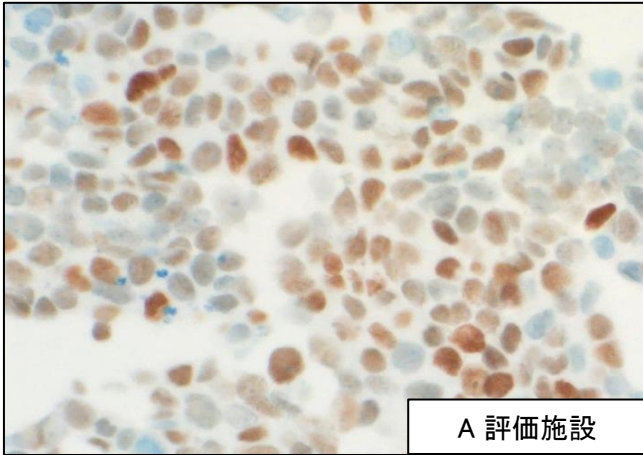
6. 日常業務の免疫染色での悩みなどあればご記入してください。

- ・陽性対照の確保。プロトコル不明抗体の染色性の出来不出来。
- ・標本確認の際、非特異反応がある標本の判断に悩む。
- ・機器のメンテナンスが大変。
- ・マルチコントロールの販売等があれば良いと思う。
- ・他施設からの検査を受託しているため、時々送付されてくる標本に施設間差がある。それゆえ判定時に苦慮する事がある。
- ・コントロール切片の確保が困難。(特にCMV)。
- ・固定時間6-72時間を厳守するため、長期連休の対応に苦慮している。

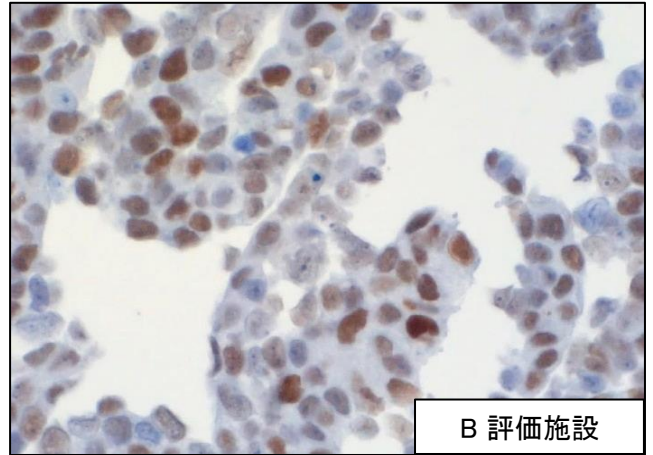
7. 今後、免疫染色サーベイを行ってほしい項目があれば記入してください。

- ・CD10
- ・メラノーマ
- ・MIB-1
- ・CD31

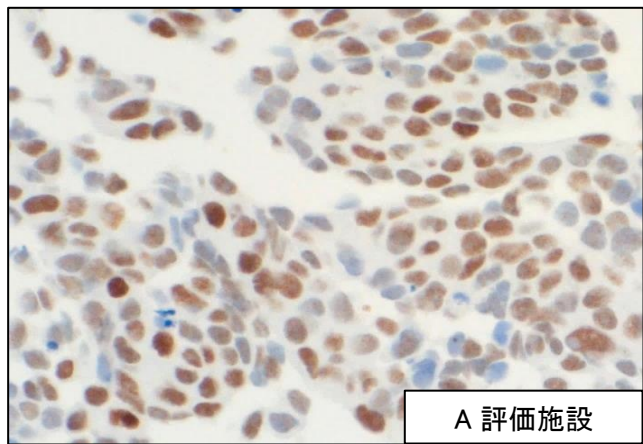
免疫組織化学染色サーベイ:ER



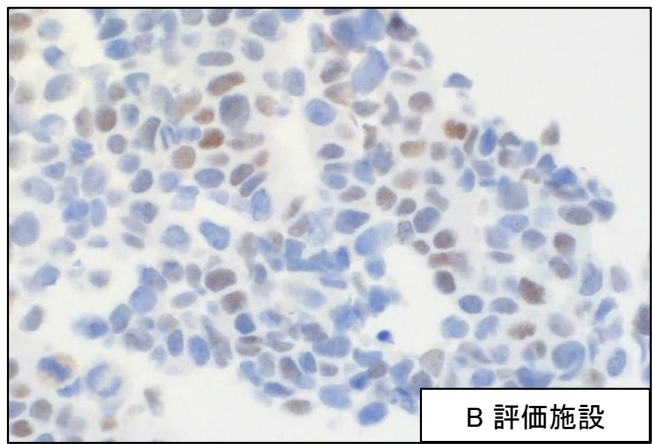
ロシュ社(SP1)使用



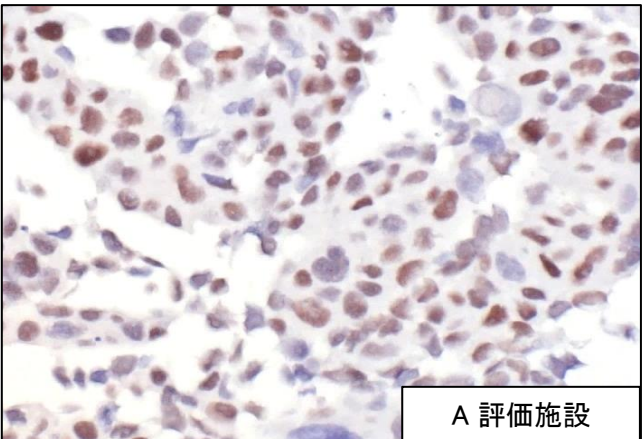
ロシュ社(SP1)使用 ヘマトキシリンが濃い



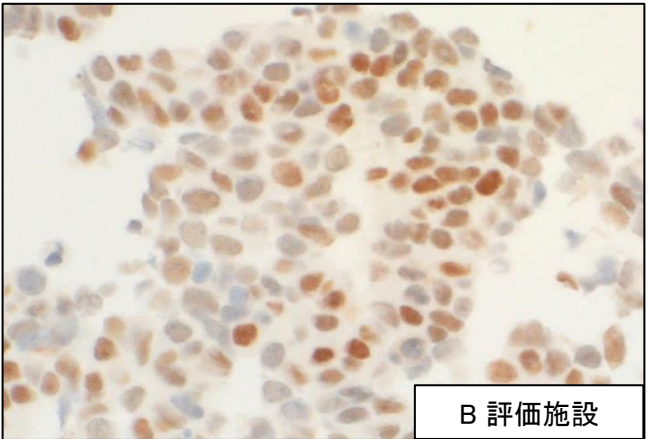
ライカ社(6F11)使用



アジレント社(EP1)使用 染色性が弱い



ニチレイ社(SP1)使用



ニチレイ社(SP6)使用 過染あり

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、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、分からない理由や細胞所見などを記述する欄を設けた。本年度もフォトの印刷物を配布せず、Web 掲載のみで実施した。

【参加施設数】

申し込み 48 施設に対し回答総数 48 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およびギムザ染色を用い、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、判定区分では良性、悪性又は陰性、陽性の 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。

【評価基準および成績の概要】

回答総数 48 施設における正答率は判定区分では 98.4%、推定病変では 96.2%(1 問 3 点満点として、誤字などの減点分を加味した点数で算出)で、判定区分と推定病変を合わせた総合正答率は 97.8%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 3 の 91.7%であった。設問 2 では、NILM と回答した施設が 1 施設、設問 3 では、良性と回答した施設が 4 施設、設問 8 では、良性と回答した施設が 1 施設あった。

推定病変では、全 8 問中 6 問が 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 8 の 87.5%であった。設問 2 では、AGC と回答した施設が 1 施設、粘液性腺癌と回答した施設が 2 施設あった。なお、粘液性腺癌は旧取扱い規約の文言であり、現在は使用されていないため、回答した施設に対しては減点を行っている。設問 3 では、腺癌、repair cell、肺胞上皮細胞、類上皮細胞、過誤腫と回答した施設が各 1 施設あった。設問 4 では、明細胞腺癌と回答された施設が 4 施設あった。前述と同様の理由により、回答した施設に対して減点を行っている。設問 6 では、判定区分を陰性、陽性としたが、陰性＝良性および腫瘍がある＝陽性、この二者の考えはどちらも正当性があると判断し、陰性、陽性どちらも正解とした。設問 7 では、多型腺腫と回答した施設が 2 施設あり、誤字のため減点を行った。設問 8 では、中枢神経細胞腫、退形成性星細胞腫、びまん性星細胞腫、神経膠腫、乏突起膠腫、膠芽腫と回答した施設が各 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、全ての問題において、正答率 80%以上となり、問題として適正と判断した。

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 評価として判断した。

【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〕 カンジダ感染（真菌感染）

【解説】

異型の乏しい表層型～中層型の扁平上皮細胞が多数見られる。扁平上皮細胞集塊を貫くように赤色調の真菌仮性菌糸が見られる。カンジダ感染(真菌感染)の細胞像と考える。

本症例では明らかではないが、出現している細胞に核腫大や細胞質の虫食い状の変化を示すこともカンジダ感染の特徴的な所見である。

Candida albicans では胞子と仮性菌糸が見られることが多く比較的見つけやすいが、Candida glabrata は仮性菌糸を作らない胞子のみの真菌であるため、強拡大での詳細な観察が必要である。

設問2 正解：〔判定区分〕 Adenocarcinoma

〔推定病変あるいは細胞〕 通常型内頸部腺癌（腺癌）

【解説】

弱拡大で集塊とほつれた細胞を認める。強拡大では、クロマチンがやや増量し核形不整と核小体を認める。核は偏在している。個々の細胞は粘液を伴っている細胞と伴っていない細胞が混在している。腺癌(子宮頸部腺癌)の細胞像である。組織型は通常型内頸部腺癌の症例であったが、粘液性癌との鑑別がこの写真のみでは難しいため、粘液性癌も正解とした。

2017年7月改訂の子宮頸癌取り扱い規約では粘液性腺癌から粘液性癌と変わっている。2施設が粘液性腺癌と回答しており、粘液性腺癌という疾患名は現在の規約上存在しないため減点とした。常に最新の規約に対応するように努めていただきたい。

今回、判定区分にNILMで推定病変をAGCとした施設がみられた。NILMもAGCもベセスダ分類であり、今回のベセスダ分類の設問の選択肢にはAGCはない。現場に近い回答をしていただいていると理解はできるが、ベセスダ分類の回答ではNILMを選んでしまっているため良悪の鑑別の点から不正解とした。今後は選択肢の中から回答していただけたらと思う。

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

【解説】

不整な重積性を示す細胞集塊を認める。個々の細胞では、N/C 比大で核は類円形ないし楕円形で大小不同を示し、クロマチンの凝集を認める。楕円形核を有する異型細胞が長軸方向に沿って、一定方向に流れるような配列（流れ様配列）を示している。以上の所見より、扁平上皮癌と考えることができる。

腺癌でも流れ様配列を示すことはあるが、集塊のごく一部のみの場合が多く、本症例のように集塊の大部分がそのような配列を示すことは希であることから鑑別可能と考える。

類上皮細胞では、細胞密度は高くなく、クロマチンの凝集も認めない、また、集簇して一部で流れるように配列することはあっても、これだけの数の細胞が一定方向に流れる配列を認めることはほとんどない、などの点で鑑別可能であると考ええる。

再生上皮細胞も本症例と同様の流れ様配列を示すが、再生上皮細胞では、細胞質が比較的豊富である、クロマチンの凝集を認めない、明瞭な核小体を認める、ことが多いが、本症例においてそれらは該当せず、鑑別可能であると考ええる。

肺胞上皮細胞は扁平な I 型、立方状の II 型があるが、本症例は形態的に II 型とは言えず、I 型でもこれほどの集塊で認めることはほぼない。

過誤腫では、パパンニコロウ染色で淡青紫～青色に染色される硝子様の軟骨細胞、淡乳白色～淡青紫色の粘液様基質を伴った紡錘形細胞、の出現が特徴であり、鑑別可能と考える。

臨床所見に感染症疑いの記載があったため、良性の細胞も鑑別に挙げたと考えるが、クロマチン凝集を示す N/C 比の大きい細胞が不整な重積を示している点で、悪性と判断可能であると考ええる。

設問4 正解：[判定区分] 悪性

[推定病変あるいは細胞] 明細胞癌（卵巢癌・腺癌）

【解説】

球状構造を示す異型細胞集塊を認める。異型細胞の核にはクロマチンの増量、大小不同、明瞭な核小体を認める。集塊の外側は一層の細胞に取り囲まれるように配列しており、集塊内部は淡明で豊富な細胞質を有する。

これはミラーボール状集塊と呼ばれ、体腔液中に出現する明細胞癌に特徴的な所見のひとつである。体腔液で球状集塊を形成する腺癌は明細胞癌以外でもみられ、写真では組織型の判別が難しいと考えられたことから、腺癌や卵巢癌も正解とした。

2016 年 7 月に発行された卵巢腫瘍・卵管癌・腹膜癌取扱い規約及び、2017 年 7 月に改訂された子宮体癌取扱い規約では明細胞腺癌から明細胞癌へ名称が変更になっている。4 施設で明細胞腺癌と回答されていたが、明細胞腺癌という名称は現在の規約では存在しないため減点とした。

設問5 正解: [判定区分] 良性

[推定病変あるいは細胞] ウイルス感染細胞 (decoy cell)

【解説】

今回提示した症例は生体腎移植後患者の自然尿で、綺麗な背景に N/C 比が増大し、核内のすりガラス様構造や変性したクロマチンを有する尿細管上皮細胞を認める。クロマチンの増量や核形不整等の悪性所見は認めず、ウイルス感染細胞(decoy cell)と判断できる。悪性細胞との鑑別が重要になるが、N/C 比の増大は認めるものの核縁のスムーズさと変性したクロマチン等の所見から鑑別可能と考える。

生体腎移植ではレシピエントに潜伏感染していたウイルスが、あるいは既感染のドナーから移植臓器を介してレシピエントに持ち込まれたウイルスが免疫抑制下で再活性化して発症することが多いとされている。本邦ではサイトメガロウイルス感染症が最も頻度が高く、重要な移植後ウイルス感染とされている。

ウイルス感染細胞(decoy cell)は麻疹、ヘルペス、ポリオーマ、サイトメガロウイルスなどのウイルス感染により、尿中に特徴的な封入体細胞として出現する。感染細胞は著しい変性ととともに、N/C 比の増大や核内のすりガラス様構造、多核巨大化等の所見を認める。また、核の濃染がみられることで悪性と間違いやすいことから別名“囷細胞”とも呼ばれている。

基本的に出現細胞は少なく、出現が一過性であるためウイルス感染であれば癌細胞と異なり、数回検査を繰り返すことで消失する。時に突発性腎出血や染料工場勤務者でもみられるので注意が必要である。

設問6 正解: [判定区分] 陰性 (陽性も正解とした)

[推定病変あるいは細胞] 神経鞘腫

【解説】

弱拡大では、きれいな背景に腫瘍細胞が流れるような配列を示す細胞集塊で出現している。孤立散在性に出現する細胞はみられない。細胞集塊において、細胞(核)が重なっている部分は細胞密度が高く見え、細胞(核)に粗密がみられる。細胞(核)の密な部分で核が横一列に柵状に並ぶ palisading や、束状配列(細長い細胞が一定方向に流れてみえる)がみられる。

強拡大で個々の細胞をみると、核は長紡錘形で均一であり、核分裂像など悪性を示唆する所見はみられない。

細胞像のみでは他の紡錘形細胞腫瘍との鑑別が難しいが、臨床所見の「組織での免疫染色にて S-100 陽性」と併せると、神経鞘腫と推定することは可能と考える。

神経鞘腫は、Schwann 細胞への分化を示す代表的な良性末梢神経腫瘍であり、あらゆる年代に発生するが、中でも成人にみられることが多い。頭頸部や四肢の真皮や皮下に好発するが、脊柱管内や頭蓋内に発生することも少なくない。また、稀に骨や消化管にも生じる。多くは症状に乏しく緩徐発育性の孤立した腫瘍であるが、時に神経に沿った痛みや異常感覚を伴う。

良性腫瘍であるため判定区分「陰性」を正解としたが、腫瘍であることから推定病変が神経鞘腫であれば判定区分「陽性」も正解とした。

設問7 正解: [判定区分] 良性

[推定病変あるいは細胞] 多形腺腫

【解説】

比較的 clear な背景に、上皮性結合した類円形核を有する細胞集塊と楕円形核を有する間質由来の紡錘形細胞が同一写真内に混在して出現している。

背景には粘液様物質が認められ、ギムザ染色において異染性を示している。

多形腺腫の典型的な細胞像と判断する事は可能と考える。

多形腺腫と入力された施設が 2 施設あり、入力ミスとは考えるが、誤字のため減点を行った。

設問8 正解: [判定区分] 悪性

[推定病変あるいは細胞] 悪性リンパ腫 (リンパ腫)

【解説】

背景にライトグリーンに染色される細胞質の破砕物と考えられる変性物質が多数出現している。Lymphoglandular bodies と考える。小型リンパ球の核 2 個より、あるいは組織球の核より大きな核を有する、比較的均一な異型細胞が孤立散在性にみられる。異型細胞の核は不整形、ときに切れ込み (cleavage) を有する。クロマチンは増量し、特に核膜周辺に分布し、それ以外の部分の核質は明るい。核小体は比較的大きく、ややいびつで核縁に 1~数個認められる。細胞質はライトグリーンに淡染で、乏しく N/C 比が非常に高い。びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (diffuse large B-cell lymphoma) を考える。原発性中枢神経リンパ腫 (primary central nervous system lymphoma) は病変が中枢神経に発生・限局し、他の臓器に病変を認めない。大半は、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫である。頻度はリンパ腫全体の 1% 未満とされている。高齢者に多く 6 割以上を 60 歳以上が占めている。約 85% が大脳、約 13% が小脳や脳幹に発現する。

- 神経膠腫: 星細胞腫、乏突起神経膠腫、上衣腫などの種類があり、脳腫瘍の 25% を占めており、悪性度に応じて 4 つの grade に分けられる。grade 1 (毛様細胞性星細胞腫) や grade 2 (星細胞腫や乏突起神経膠腫など) に比べて grade 3 (退形成星細胞腫や退形成乏突起神経膠腫など) や grade 4 (膠芽腫) は悪性度が高い。
- びまん性星細胞腫: 原線維性型は背景に網目状に走行する神経膠線維を伴い、内部に均一な形・大きさで紡錘形の腫瘍細胞が絡みつくように出現する。細胞密度は高くない。腫瘍細胞の核は類円形~紡錘形で、クロマチンは軽度増量している。やや豊富な細胞質は淡明で、細長い細胞質突起を伸ばしている。肥胖細胞性型は特徴的で、認識しやすく、類円形の核は偏在し、軽度の異型を示す。豊富な好酸性、すりガラス状の細胞質には太く短い細胞質突起を有し、周囲に神経線維への広がりを伴っている。時に膠芽腫と誤認しやすいが、血管増生や壊死の存在の有無等が参考となる。好発年齢は 20~45 歳にピークを示す。
- 退形成性星細胞腫: 通常の星細胞腫に比べて細胞密度が高く、星細胞腫同様に毛細血管周囲に集簇する傾向がある。腫瘍細胞は双極性の細胞突起が周囲の神経線維に絡みつ়く傾向を有し、大小不同など核異型と核分裂像を認めることがある。クロマチンは粗大顆粒状で核縁に寄る傾向を示し、より核縁の不整が強調される。細胞質は狭く、裸核細胞が多数出現する。壊死巣を認めることはない。好発年齢は 40 歳代にピークを有し、若干男性に多い。

- 膠芽腫: 膠芽腫は線維成分や壊死物質を背景に、核の大小不同が著しい異型細胞が高い細胞密度で出現し、多形性が強く、しばしば多核で巨大な異型細胞もみられる。明瞭な核小体と核形不整を示す。微小血管増殖に相当する毛細血管の不規則な蛇行を伴う増生がみられる。年齢は 45~70 歳と広く分布し、男性に多い。鑑別には詳細な核所見の観察が重要である。
- 中枢性神経細胞腫: 背景に壊死はみられず、小型円形の腫瘍細胞が多数出現する。細胞質は網目状で明るく、その辺縁から長く糸を引くような線維状突起がみられる。核は円形で均一で、核縁は薄く整で、クロマチンは微細顆粒状であり、核小体は目立たない。小血管の混在も認める。好発年齢は 20~40 歳で性差はなく、ほとんどが側脳室および第 3 脳室内に発生する。乏突起膠腫と類似している。
本症例に関しては、写真上の情報から背景所見と核所見により鑑別が可能と考える。

【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	・兵庫県立尼崎総合医療センター

【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難くなるものの、消去法による安易な選択回答は回避できる。また、選択式をとる事で、記載された回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 98.4%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 2、3、8 で良悪の判定を間違った施設があった。良悪性の判断は日常の診断において最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正答率 96.2%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回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 2 では 1 施設、設問 3 では 5 施設、設問 8 では 6 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、推定病変まで回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するが、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扱い規約の改訂に伴って変更するため、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ると考え。この点を重視すると記述式を採用する利点は大きいと考える。

今回の設問では、子宮頸部 2 例、呼吸器 1 例、体腔液 1 例、泌尿器 1 例、耳下腺 1 例、非上皮組織 2 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、良悪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 48 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	48	100	48		100
2	47	97.9	45	2	96.5
3	44	91.7	43		89.6
4	48	100	44	4	97.2
5	48	100	48		100
6	48	100	48		100
7	48	100	46	2	98.6
8	47	97.9	42		87.5
平均	47.1	98.4	46.5		96.2

※推定病変の正答率は 1 問 3 点満点として減点も加味した点数で算出

表 2

回答 48 施設

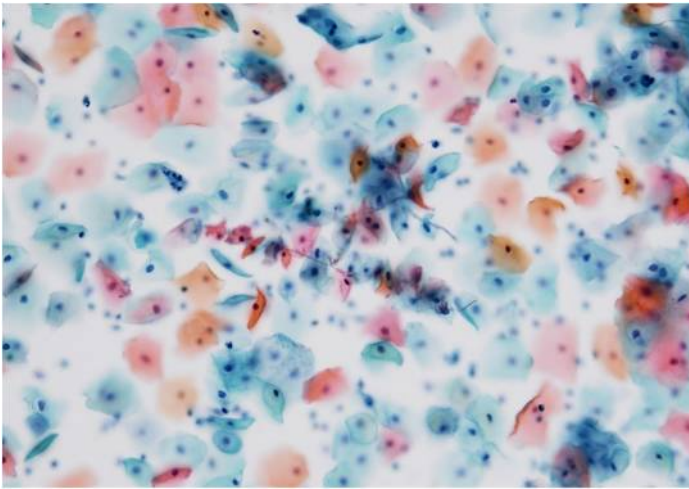
設 問		判定区分		推定病変		
		NILM	HSIL 等	1 位	2 位	3 位
		良性	悪性			
1	回答数 (回答率)	48 (100%)	0 (0%)	カンジダ 24 (50.0%)	カンジダ感染 11 (22.9%)	真菌感染 2 (4.2%)
2	回答数 (回答率)	1 (3.1%)	47 (97.9%)	腺癌 34 (70.8%)	頸部腺癌 9 (18.6%)	粘液性腺癌 2 (4.2%)
3	回答数 (回答率)	4 (8.3%)	44 (91.7%)	扁平上皮癌 37 (77.1%)	非角化型 扁平上皮癌 5 (10.4%)	非小細胞癌 (扁平上皮癌疑い) 1 (2.1%)
4	回答数 (回答率)	0 (0%)	48 (100%)	腺癌 27 (56.3%)	明細胞癌 5 (10.4%)	腺癌 (卵巣癌の転移) 4 (8.3%)
5	回答数 (回答率)	48 (100%)	0 (0%)	デコイ細胞 21 (43.8%)	ウイルス感染細胞 15 (31.3%)	デコイセル 5 (10.4%)
6	回答数 (回答率)	—	—	神経鞘腫 48 (100%)	—	—
7	回答数 (回答率)	48 (100%)	0 (0%)	多形腺腫 46 (95.8%)	多型腺腫 2 (4.2%)	—
8	回答数 (回答率)	1 (3.1%)	47 (97.9%)	悪性リンパ腫 39 (81.3%)	リンパ腫 2 (4.2%)	非ホジキン リンパ腫 1 (2.1%)

表 3

施設番号	正解率	施設番号	正解率	施設番号	正解率	施設番号	正解率
9280125	100%	9280148	86.3%	9280059	100%	9280001	100%
9280146	100%	9280280	100%	9280100	100%	9280209	87.5%
9280010	100%	9280020	100%	9280160	100%	9280417	100%
9780066	100%	9280237	96.3%	9280191	100%		
9280130	100%	9280115	83.8%	9280124	95%		
9280083	100%	9780032	100%	9280149	100%		
9280117	100%	9280153	100%	9280140	100%		
9280091	100%	9780060	96.3%	9780014	98.8%		
9270069	98.8%	9280002	100%	9280095	100%		
9280003	100%	9280033	98.8%	9280206	100%		
9280169	75%	9280047	100%	9280012	100%		
9280038	100%	9280143	86.3%	9280099	100%		
9280060	100%	9280164	100%	9280042	100%		
9280035	96.3%	9280114	93.8%	9280092	100%		
9280322	100%	9280390	100%	9280051	100%		

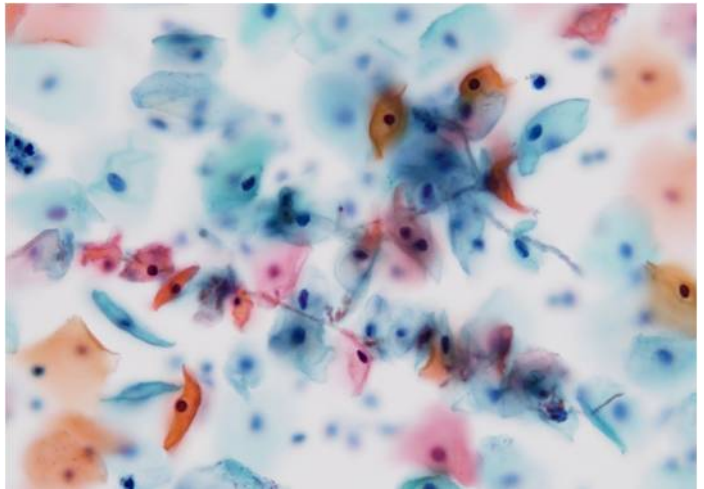
細胞診【 P1 】 フォトサーベイ ①

【設問 1】



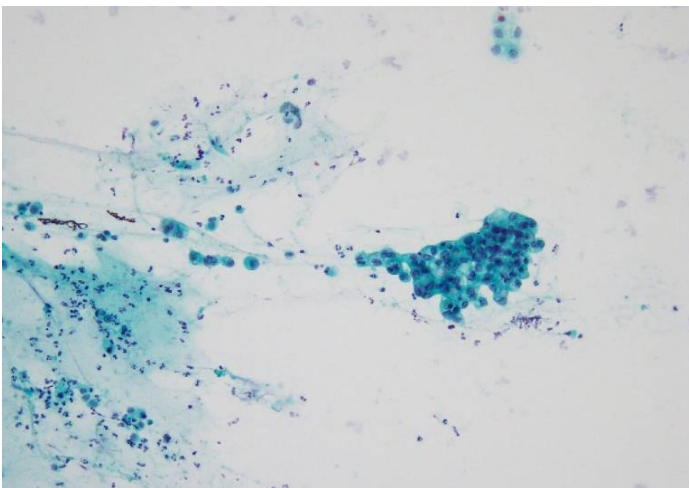
(フォト 1-A Pap.染色 弱拡大)

【設問 1】



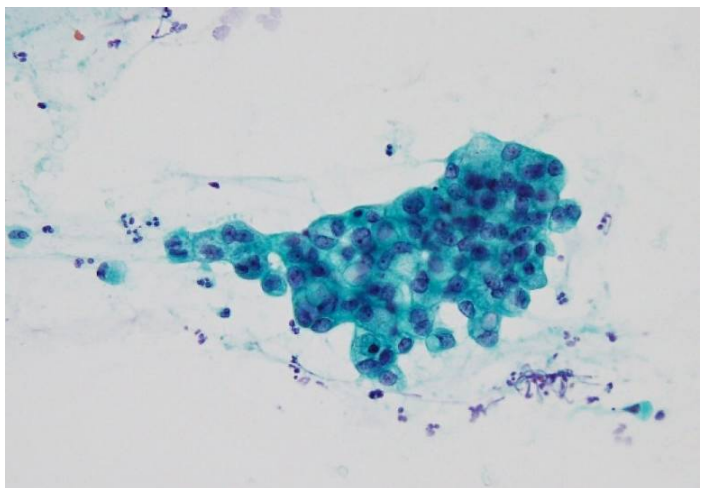
(フォト 1-B Pap.染色 強拡大)

【設問 2】



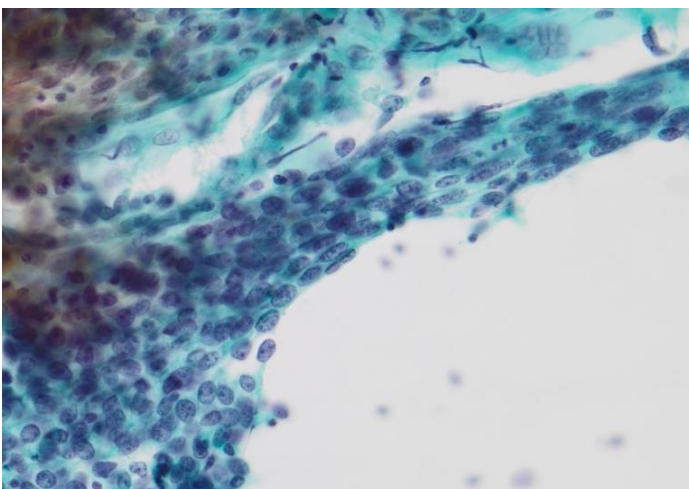
(フォト 2-A Pap.染色 弱拡大)

【設問 2】



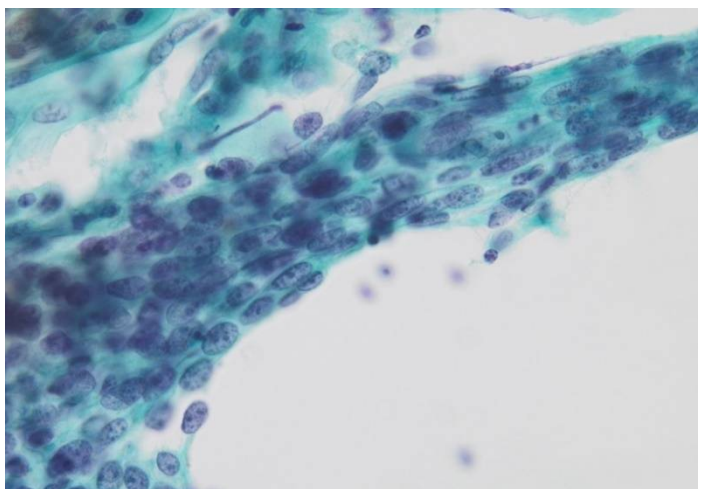
(フォト 2-B Pap.染色 強拡大)

【設問 3】



(フォト 3-A Pap.染色 弱拡大)

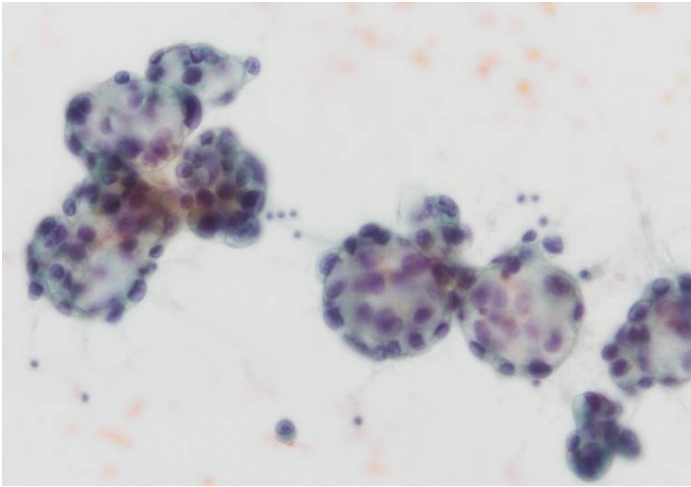
【設問 3】



(フォト 3-B Pap.染色 強拡大)

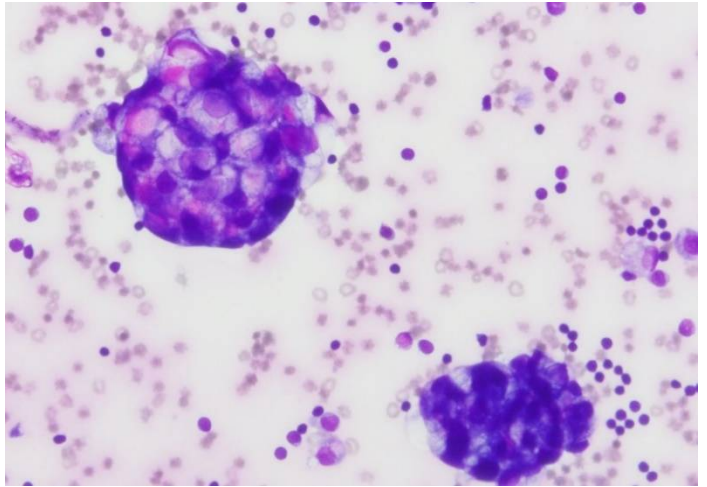
細胞診【 P1 】 フォトサーベイ ②

【設問 4】



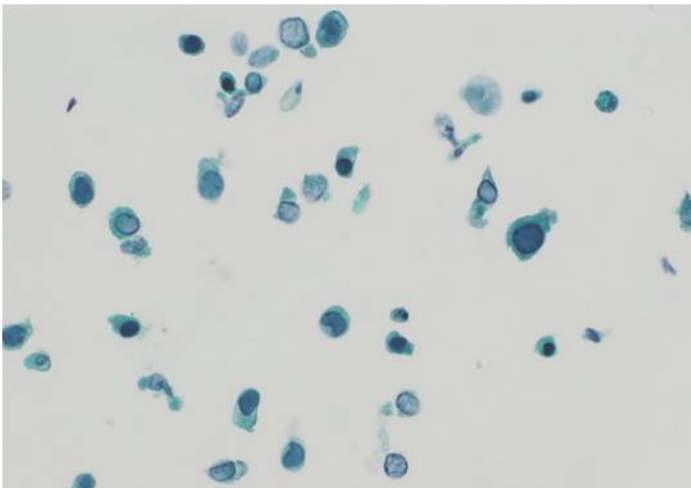
(フォト 4-A Pap.染色 強拡大)

【設問 4】



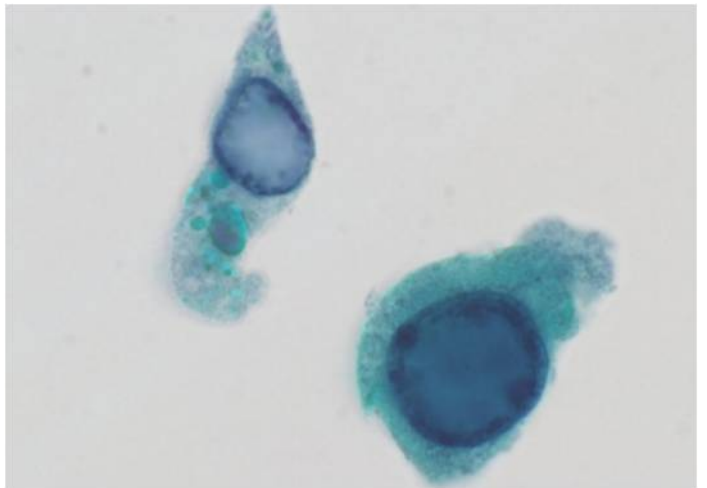
(フォト 4-B Giemsa 染色 強拡大)

【設問 5】



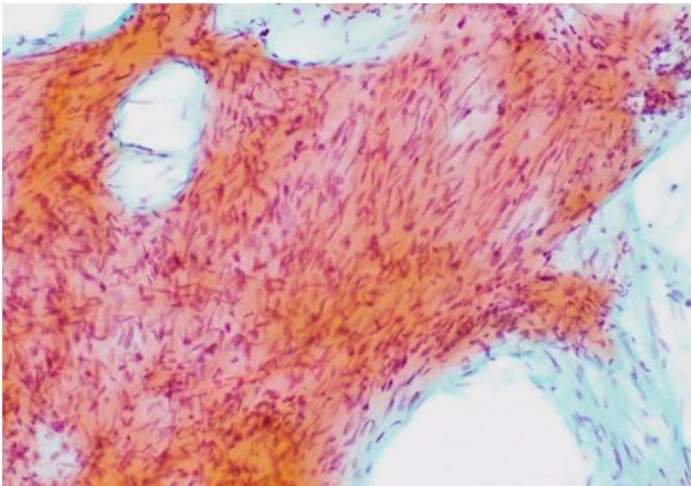
(フォト 5-A Pap.染色 弱拡大)

【設問 5】



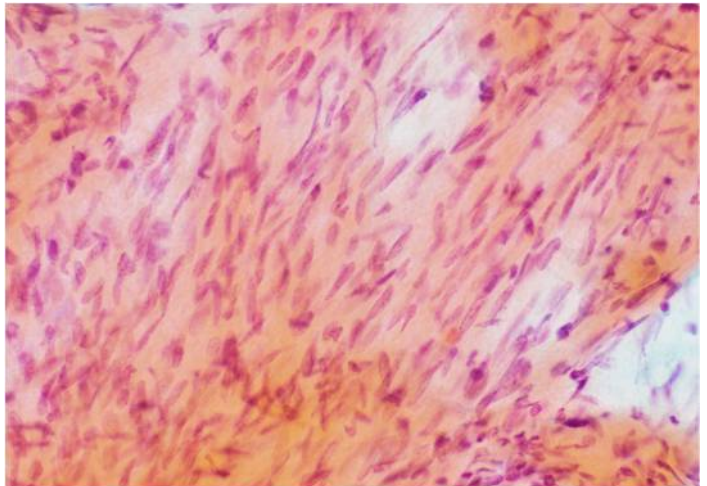
(フォト 5-B Pap.染色 強拡大)

【設問 6】



(フォト 6-A Pap.染色 弱拡大)

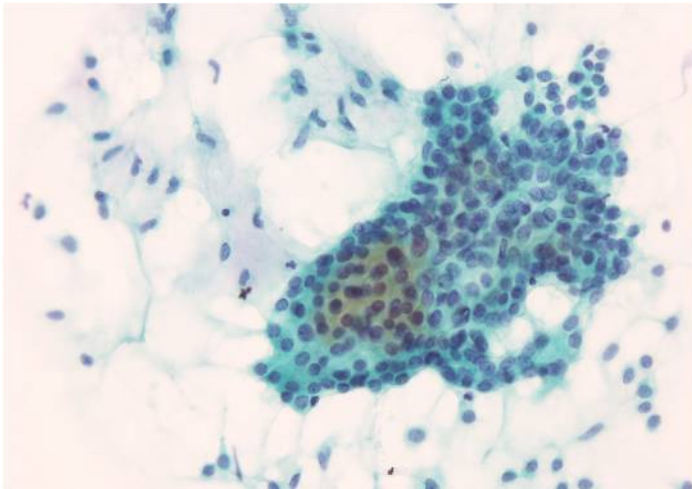
【設問 6】



(フォト 6-B Pap.染色 強拡大)

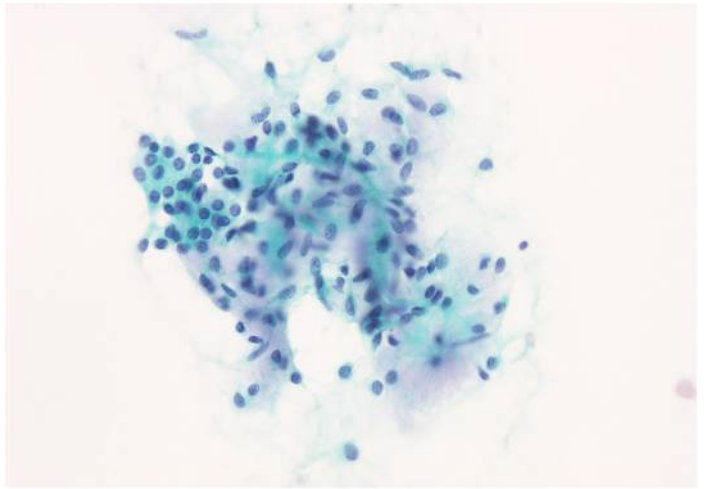
細胞診【 P1 】 フォトサーベイ ③

【設問 7】



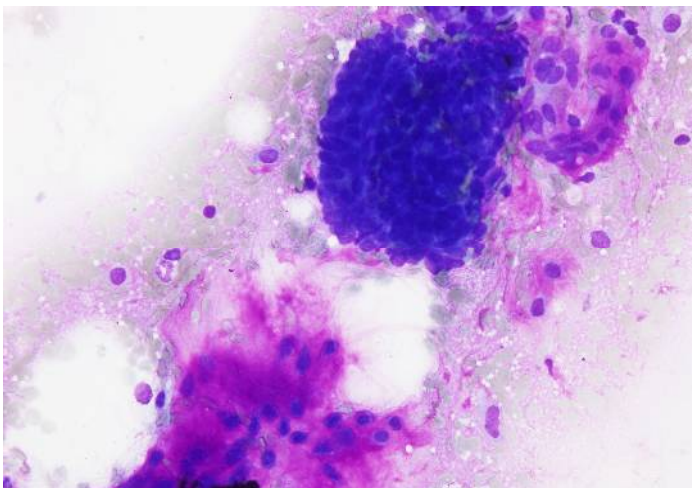
(フォト 7-A Pap.染色 強拡大)

【設問 7】



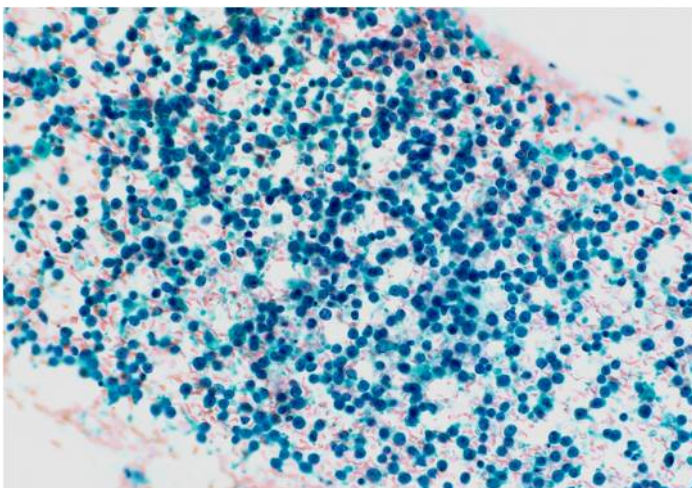
(フォト 7-B Pap.染色 強拡大)

【設問 7】



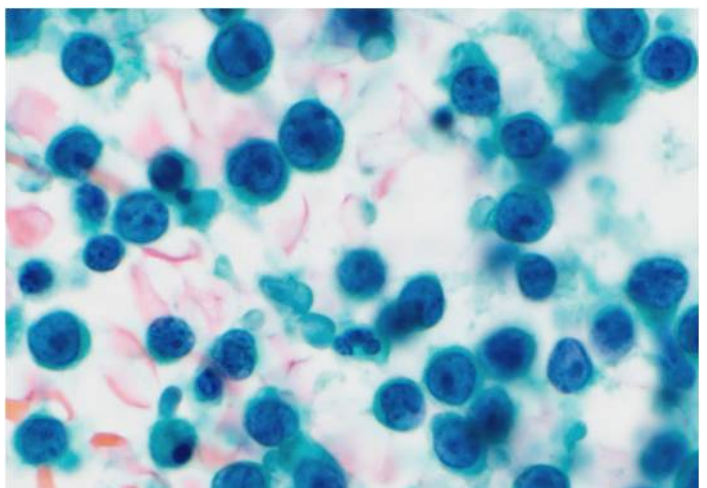
(フォト 7-C Giemsa.染色 強拡大)

【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)