

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（鍍銀染色）

【はじめに】

銀を用いて組織内の対象物を褐色から黒色に染める染色を鍍銀染色という。対象物によって使用する銀液の種類や染色方法が異なるが、一般的には鍍銀染色と言えば細網線維を染色対象とする渡辺の鍍銀法を指す。

細網線維は肝、脾、リンパ節などの網内系組織に多く存在する緻密な線維である。かつては、未分化な悪性腫瘍が上皮性であるか非上皮性であるかを鑑別する目的で細網線維の走行様式を見ることがあったため、その目的で用いられることもあったが、免疫染色の発達によりその役割は失われつつある。しかし、現在でも肝臓、脾臓、骨髄などの線維化の評価には有用性の高い染色法である。

染色工程は大まかに、酸化、還元、増感、銀アンモニア錯体との反応、還元、調色、定着となっている。酸化によって、細網線維の好銀性を増大させ、銀沈着を容易にさせる。酸化に過マンガン酸カリウムを使用した場合、反応の妨げになる二酸化マンガンをマンガンイオンに還元して流出させる。鉄ミョウバンで銀への親和性を増加（増感）させた後、アンモニア銀液と反応させる。銀液に含まれる銀アンモニア錯体と組織中の反応部が結合することにより鍍銀が行われる。ホルマリンで金属銀へと還元することにより、褐色～黒色に染まり、さらに銀の一部を金と置換させることで鏡検しやすくする（調色）。最後に、組織に残存している余剰の銀イオンあるいは銀塩をチオ硫酸ナトリウムで溶出させ（定着）、きれいな染色標本とする。

例年のごとく、施行者の技量、染色試薬以外の個体差、検体間の取り扱い差が出にくい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。

【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肝臓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、鍍銀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。

【参加施設数】

今回の鍍銀染色のサーベイには43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 細網線維、膠原線維が染め分け出来ているか。
- ② 染色ムラがないか、コントラスト・色バランスなどは適切か。
- ③ 薄切、封入などの技術的な部分に問題がないか

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-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。基準は以下のとおりである。

A-a 評価 : 「満足すべき標本」

細網線維を黒色に染め分けられている。コントラストが良く、染色ムラや共染もほとんど認めない。

A-b 評価 : 「診断上支障のない標本」

細網線維を黒色に染め分けられているが、軽度のコントラスト不良・染色ムラ・共染を認める。

B 評価 : 「診断上支障はないが、改善が必要な標本」

細網線維を黒色に染め分けられているが、コントラスト不良・染色ムラ・共染が強い、あるいは細網線維の染色性が弱い。

C 評価 : 「診断上支障をきたす標本」

細網線維を黒色に染め分けられていない。

【解析結果】

〔染色についてのアンケート集計〕

申し込み施設43施設に対し、アンケート回収施設は43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15施設(34.9%)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19施設(44.2%)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9施設(20.9%)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 病理検査（鍍銀染色）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 (%)	15 34.9 %	19 44.2 %	9 20.9 %	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（鍍銀染色）評価一覧

施設番号	鍍銀染色評価			
	A-a	A-b	B	C
9270069		○		
9280001	○			
9280002	○			
9280003		○		
9280010			○	
9280012		○		
9280033			○	
9280035			○	
9280047		○		
9280051		○		
9280059	○			
9280060			○	
9280083		○		
9280091		○		
9280092	○			
9280099		○		
9280100		○		
9280115		○		
9280117	○			
9280124	○			
9280125		○		
9280130		○		
9280135			○	
9280140	○			
9280143			○	
9280146			○	
9280148			○	
9280149	○			
9280153	○			
9280160	○			
9280162	○			
9280164	○			
9280169		○		
9280187		○		
9280191		○		
9280280	○			
9280322	○			
9280390	○			
9280537			○	
9780014		○		
9780032		○		
9780060		○		
9780066		○		

【講評およびまとめ】

令和3年度の病理組織サーベイでは、鍍銀染色をテーマとして評価を行った。

鍍銀染色の染色枚数は31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。

薄片厚は5~6 μm が30施設と最も多く、7 μm 以上の施設も12施設であった。切片は厚めの方が良いという教科書的な内容が浸透している結果であった。しかしながら、今回提出された標本の中には厚さが薄いため、細網線維の染色性がやや弱いものが散見された。アンケート結果と実際の標本にずれが生じている事から、薄切者の感覚と実際の厚さにずれが生じている可能性が考えられる。切片厚を左右する要因は様々あり、統一化はハードルの高い作業であると思われるが、染色の標準化において重要な要素の一つであるため、少なくとも技師間で大きなずれがある場合は解消するよう努めていただきたい。

染色方法は用手染色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6施設(14.0%)であるが、鍍銀染色については用手染色と比較して染色性に明らかな違いを認めた。ベンチマーク SS で染色した標本では、細網線維以外への共染がほとんどなく、コントラストが良好であるため弱拡大でも細網線維がはっきり確認でき、一見してきれいな印象を与える。一方で、用手染色と比べると細網線維がやや細く途切れがちであるため、コントラストが良好な点で補っているものの、やや物足りなさを感じる仕上がりになっている。写真を掲載するので、参照していただきたい。いずれの施設もメーカーの推奨条件あるいはそれに近い条件で染色しており、さらに切片厚についても適切と判断されることから、現時点で用手染色と同様の染色態度を得るのは困難と考えられた。よって、今回はその点を考慮して評価した。

酸化については、過マンガン酸カリウムを用いている施設が34施設、過ヨウ素酸を用いている施設が3施設であった。いずれも濃度による染色性の大きな違いは認められなかった。過マンガン酸カリウムの反応時間は3分が最も多く(16施設)、次いで5分(11施設)であった。過マンガン酸カリウムでの酸化が長すぎると、細網線維の染色性が低下し断裂も起きるとされているが、今回報告された中では10分が最長であったがそのような状況は確認できなかった。反対に酸化時間が短いと膠原線維が黒色に染色され、かつ共染が起きやすいとされているが、施設数は少ないものの1~2分の反応時間の施設では共染がやや目立った。後述するが、共染に関する工程は酸化だけではないため、断定はできないが、酸化時間は3分以上の方が良好な結果が得られやすいと考えられる。酸化に関しては、過ヨウ素酸も有用であると報告されている。過マンガン酸カリウムを用いた場合は、二酸化マンガンを除去するためにシュウ酸による還元が必要であるが、過ヨウ素酸を用いた場合は必要ない。また、過酸化による線維の断裂や染色性の低下も過マンガン酸カリウムに比べ抑制されると報告されている。採用している施設はまだ少ないが、過マンガン酸カリウムが特定化学物質で管理上も制約がある事を考えると、過ヨウ素酸への切り替えを検討してみる価値はあるかも知れない。

アンモニア銀液については、調製済み試薬を用いている施設が15施設(ベンチマークSS使用施設は除く)、自家調製している施設が18施設であった。今回の結果では、調製済み試薬でB評価、自家調製試薬でA-a評価の施設があり、その割合に偏りは認めなかった、つまり、調製済み試薬と自家調製試薬とで、評価に明らかな差異はなかった。アンケートから、自家調製方法はほとんどの施設でほぼ同様であることが分かったが、アンモニア銀液の調製は繊細で、調製者間での差異が出やすく調製ごとの再現性がやや劣るため、実際にはこの部分で染色性に負の影響を与えている可能性も考えられる。銀液の反応時間は5分が11施設と最も多かったものの、全体的には2~50分とかなりの幅があった。しかし、反応時間についても評価に明らかな差異はなかった。

還元液については、調製済み試薬を用いている施設が4施設(ベンチマーク SS 使用施設は除く)、自家調製試薬を用いている施設が28施設であった。反応時間は1分が最も多く16施設であったが、20分の施設もあつ

た。こちらもアンモニア銀液と同様、調製済み試薬と自家調製試薬および反応時間による明らかな評価の差異はなかった。染色のコツとして、還元液中ではスライドを動かさず静置する、と記載している施設が数施設あったが、これは還元液中でスライドガラスを動かすと共染が起きやすいとされているためである。染色ムラが生じないようにスライドガラスを動かしたくなるかも知れないが、還元液に漬ける際に1~2回上下させた後に静置する事で染色ムラも共染も抑えられ、良好な結果を得ることができるのではないかと考えられる。今回の精度管理でも弱拡大で気になる程度の共染を認める施設がいくつかあった。これが還元操作によるものかどうかはアンケートのみでは不明であるが、日頃から共染が気になる施設はこの点について問題ないか是非確認していただきたい。

塩化金による調色後のシュウ酸処理については、実施していない施設が13施設であったが、実施している施設と評価に明らかな差異はなかった。

核染色(後染色)は、実施していない施設が18施設で最も多く、ケルンエヒトロートが11施設、ヘマトキシリンが3施設であった。核染色をしなくてもコントラストは良好で評価が高い施設は多かった。ケルンエヒトロートについては、濃さによってはコントラストが悪いという評価の施設もあったが、概ね良好な評価であった。ヘマトキシリンについては、染色時間に依存している可能性はあるが、コントラストがやや悪いという評価であった。

今回の結果は、A評価が約80%と概ね良好であった。A-b評価になった要因としては、切片厚が薄い、軽度のコントラスト不良、軽度の共染、細網線維の染色性がやや弱い(特にベンチマークSSを使用している施設)、が挙げられる。B評価の要因としては、コントラスト不良、染色ムラ、強めの共染、が挙げられる。アンケートに記載された内容のみでは、その評価になった原因を突き止めるのは困難であったが、鍍銀染色は使用する試薬の種類や染色工程が多いため、試薬作製や染色手技の少しの違い(例えば還元操作の際に生じる共染や頻繁に行う水洗の違い)によって差が生じている可能性がある。様々な要因が複合的に合わさっている可能性もある。鍍銀染色は平均的には染色頻度が少ないが、代替が効きにくいいため、今後も不要になる事はないと思われる。今回の結果を受けて、評価が今ひとつであった施設は、この解析集に記述した点や成書などを参考に改善に向けて努めていただければと思う。

A-a評価施設の染色手順を下記に記載するので、参考にさせていただいたら幸いである。また、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こちらも参考にさせていただきたい。

【結語】

鍍銀染色の精度管理における結果は、全ての施設がB評価以上であり、『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43施設中、34施設(79.1%)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)

鍍銀染色についてのアンケート結果（総数 43）

(1) 貴施設では1ヶ月何枚位、鍍銀染色をしていますか。

染色枚数	施設数	%
0～5 枚	31	72.1
6～10 枚	6	14.0
11～50 枚	5	11.6
51～100 枚	1	2.3

(1) 何μmで薄切していますか。

薄切厚	施設数	%
3～4 μm	1	2.3
5～6 μm	30	69.8
7μm 以上	12	27.9

(2) 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	%
0.5% 過ヨウ素酸水溶液	2～3 分	1	2.3
	2 分	1	2.3
1.0% 過ヨウ素酸水溶液	3 分	1	2.3
	3 分	2	4.7
0.5% 過マンガン酸カリウム水溶液	1 分	1	2.3
	2 分	1	2.3
	3 分	14	32.6
	5 分	11	25.6
	7 分	2	4.7
	10 分	2	4.7
	記載なし	1	2.3
Oxidizer（ベンチマーク SS 専用）	4 分	6	14.0

還元		施設数	%
なし		1	2.3
1% シュウ酸水溶液	20～30 秒	1	2.3
	1～2 分	2	4.7
2% シュウ酸水溶液	1 分	6	14.0
	1 分 30 秒	1	2.3
	1～2 分	1	2.3
	2 分	20	46.5
	3 分	1	2.3
	5 分	1	2.3
	記載なし	1	2.3
Decolorizer （ベンチマーク SS 専用）	4 分	3	7.0
	8 分	3	7.0
記載なし		2	4.7

増感		施設数	%
2% 鉄ミョウバン	40～50 秒	25	58.1
	1 分	8	18.6
	5 分	1	2.3
5% 鉄ミョウバン	50 秒	3	7.0
Sensitizer (ベンチマーク SS 専用)	4 分	1	2.3
	8 分	5	11.6

銀アンモニア錯体との反応		施設数	%
アンモニア銀液	2 分	1	2.3
	3 分	1	2.3
	5 分	11	25.6
	8 分	1	2.3
	10 分	5	11.6
	12 分	1	2.3
	15 分	3	7.0
	20 分	2	4.7
	25 分	2	4.7
	30 分	7	16.3
	20～30 分	2	4.7
Reticulum II Silver A (ベンチマークSS専用)	4 分	1	2.3
	16 分	5	9.3

分別		施設数	%
70% エタノール	1 秒	2	4.7
95% エタノール	1～2 秒	22	51.2
	2 秒×2 槽	3	7.0
	5 dip	1	2.3
	10 dip	1	2.3
純エタノール	1～2 秒	8	18.6
SS Wash (ベンチマーク SS 専用)		6	14.0

還元		施設数	%
還元液	1 分	16	37.2
	1 分以上	3	7.0
	1 分 30 秒	3	7.0
	1～2 分	5	11.6
	2 分	6	14.0
	2～3 分	1	2.3
	5 分	1	2.3
	15 分	1	2.3
	20 分	1	2.3
Reducer (ベンチマークSS専用)	4 分	6	14.0

調色		施設数	%
0.1% 塩化金水溶液	40分	1	2.3
0.2% 塩化金水溶液	10分	8	18.6
	15分	4	9.3
	20分	1	2.3
	30分	6	14.0
	30分以上	1	2.3
	40分	2	4.7
	60分	10	23.3
	15～60分	1	2.3
	40～60分	1	2.3
	1晩	1	2.3
	10分～1晩	1	2.3
Toner (ベンチマークSS専用)	4分	6	14.0

シュウ酸処理		施設数	%
なし		13	30.2
0.2% シュウ酸水溶液	2分	1	2.3
2% シュウ酸水溶液	1分	3	7.0
	2分	9	20.9
	1～2分	2	4.7
	3分	1	2.3
	5分	11	25.6
	2～5分	1	2.3
記載なし		2	4.7

定着		施設数	%
なし		1	2.3
定着液	2分	1	2.3
	3分	1	2.3
	4分	1	2.3
	5分	6	14.0
酸性硬膜定着液	30秒～1分	1	2.3
	3分	3	7.0
	5分	2	4.7
0.25% チオ硫酸ナトリウム水溶液	1分	1	2.3
0.5% チオ硫酸ナトリウム水溶液	2分	1	2.3
	5分	1	2.3
1% チオ硫酸ナトリウム水溶液	5分	2	4.7
2% チオ硫酸ナトリウム水溶液	2分	1	2.3
	3分	4	9.3
	5分	4	9.3
5% チオ硫酸ナトリウム水溶液	1分	2	4.7
	2分	2	4.7
	5分	3	7.0
Fixer II (ベンチマークSS専用)	4分	6	14.0

核染色（後染色）		施設数	%
なし		18	41.9
ケルンエヒトロート	2分	3	7.0
	3分	1	2.3
	4分	2	4.7
	5分	3	7.0
	8分	1	2.3
	10分	1	2.3
ヘマトキシリン	10秒	1	2.3
	1分	1	2.3
	5分	1	2.3
ヌクレアーファーストレッド （SS専用）	4分	5	11.6
	16分	1	2.3
記載なし		5	11.6

封入	施設数	%
マリノール	23	53.5
エンテランニュー	11	25.6
マルチマウント 480	2	4.7
HSR 液	2	4.7
MGK-S	1	2.3
ユークリア	1	2.3
記載なし	3	7.0

(3) 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】

試薬	施設数	%
0.5% 過マンガン酸カリウム液〈武藤化学〉 （調製済試薬）	5	11.6
1% 過ヨウ素酸液〈武藤化学〉（調製済試薬）	1	2.3
鍍銀Ⅱ試薬キット〈ロシュ・ダイアグノスティクス〉 （自動特殊染色装置ベンチマークSS専用試薬）	6	14.0
自家調製	28	65.1
記載なし	3	7.0

〔酸化液の自家調製に使用する試薬〕（回答:27施設）

試薬	メーカー（採用施設数）
過マンガン酸カリウム	富士フイルム和光純薬（12）
	片山化学（5）
	関東化学（4）
	石津製薬（3）
	ナカライテスク（1）
	保栄薬工（1）
オルト過ヨウ素酸	富士フイルム和光純薬（1）

【アンモニア銀液】

試薬	施設数	%
アンモニアック銀液〈武藤化学〉 (調製済試薬)	15	34.9
鍍銀Ⅱ試薬キット〈ロシュ・ダイアグノスティクス〉 (自動特殊染色装置ベンチマークSS専用試薬)	6	14.0
自家調製	18	41.9
記載なし	4	9.3

※調製済試薬を採用した理由

- ・染色性が良好で安定しており、精度管理上も優れている。
- ・調製や管理が簡便で、調製者による差異がない。

〔アンモニア銀液の自家調製に使用する試薬〕 (回答:18施設)

試薬	メーカー (採用施設数)
硝酸銀	富士フイルム和光純薬 (14) 関東化学 (2) シグマアルドリッチジャパン (2)
水酸化カリウム	富士フイルム和光純薬 (13) 武藤化学 (1) ナカライテスク (1) 石津製薬 (1) 関東化学 (1) 片山化学 (1)
アンモニア水	富士フイルム和光純薬 (13) 石津製薬 (2) 武藤化学 (1) 関東化学 (1) シグマアルドリッチジャパン (1)

〔アンモニア銀液の調製方法〕 (代表的なものを抜粋)

- ①10%硝酸銀液 5mlに4%水酸化カリウム水溶液を加え(0.5~2.5ml)、沈殿物を生じさせる。振盪しながらアンモニア水をゆっくり滴下していき、沈殿物がわずかに残るくらい(数粒程度)で滴下を止める。蒸留水を加えて全量50mlにする。(最後にゼラチンを少量加える施設もあり)
- ②10%硝酸銀液 5mlに40%水酸化カリウム水溶液を数滴加え、黒褐色の沈殿がなくなる直前までアンモニア水をよく振とうしながら滴下する。全量を精製水で50mlにする。

【還元液】

試薬	施設数	%
還元液〈武藤化学〉 (調製済試薬)	4	9.3
鍍銀Ⅱ試薬キット〈ロシュ・ダイアグノスティクス〉 (自動特殊染色装置ベンチマークSS専用試薬)	6	14.0
自家調製	28	65.1
記載なし	5	11.6

〔還元液の自家調製に使用する試薬〕（回答：26施設）

試薬	メーカー（採用施設数）
ホルムアルデヒド液 （ホルマリン原液）	富士フイルム和光純薬（16） 武藤化学（3） 関東化学（2） シグマアルドリッチジャパン（1） 日興製薬（1） 小塚製薬（1） 不明（1）
緩衝ホルマリン	関東化学（1）
鉄ミョウバン （硫酸アンモニウム鉄〔Ⅲ〕）	富士フイルム和光純薬（11） 武藤化学（8） 関東化学（2） 片山化学（2） 石津製薬（2） 不明（1）

〔還元液の調製方法〕（代表的なものを抜粋）

ホルムアルデヒド液（ホルマリン原液）0.5ml、2%鉄ミョウバン水溶液 1ml、蒸留水48.5mlを混和する。

（多くの施設が、使用直前に調製と記載）

【定着液】

試薬	施設数	%
定着液を使用しない	1	2.3
2% チオ硫酸ナトリウム液〈武藤化学〉 （調製済試薬）	2	4.7
5% チオ硫酸ナトリウム液〈武藤化学〉 （調製済試薬）	2	4.7
写真用酸性硬膜定着液〈武藤化学〉 （調製済試薬）	9	20.9
鍍銀Ⅱ試薬キット〈ロシュ・ダイアグノスティクス〉 （自動特殊染色装置ベンチマークSS専用試薬）	6	14.0
自家調製	20	46.5
記載なし	3	7.0

〔定着液の自家調製に使用する試薬〕（回答：20施設）

	メーカー（採用施設数）
チオ硫酸ナトリウム	富士フイルム和光純薬（11） シグマアルドリッチジャパン（2） 関東化学（1） ナカライテスク（1） 片山化学（1） 石津製薬（1） キシダ化学（1）
定着液	不明（2）

(4) 染色操作や試薬調製におけるコツ、工夫していることや注意点などがあれば具体的に教えて下さい。

- ・器具を蒸留水で洗浄する。
- ・金属の器具(ピンセットなど)を使用せず、木製やプラスチック製のものを使用する。
- ・銀粒子の沈着を抑えるためにアンモニア銀液にゼラチンを加えている。
- ・鉄ミョウバンは1分を超えない。
- ・銀を使用する染色を行う際には、共染等がないように随時鏡検しながら確認している。
- ・還元液にすばやく漬け、液中では動かさず静置し、細胞質に銀粒子が付着しないように注意する。
- ・蒸留水水洗を念入りに行う。

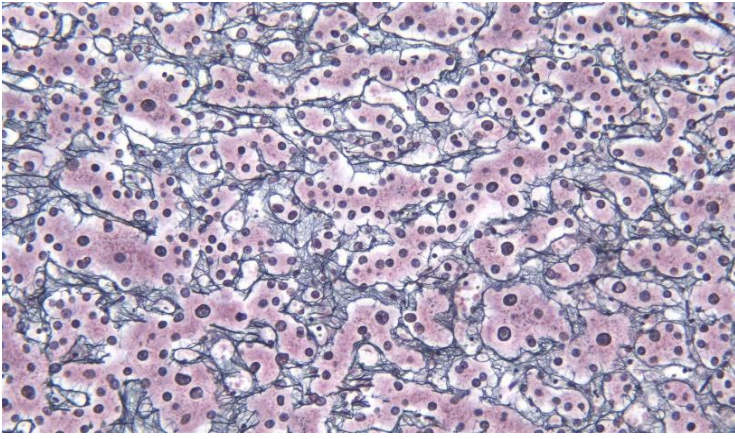
(5) 染色についての質問等あればお書きください。

- ・アンモニア銀液と分別の95%アルコールに関して、どの程度がちょうど良いのか見極めるポイントがあれば教えてほしい。

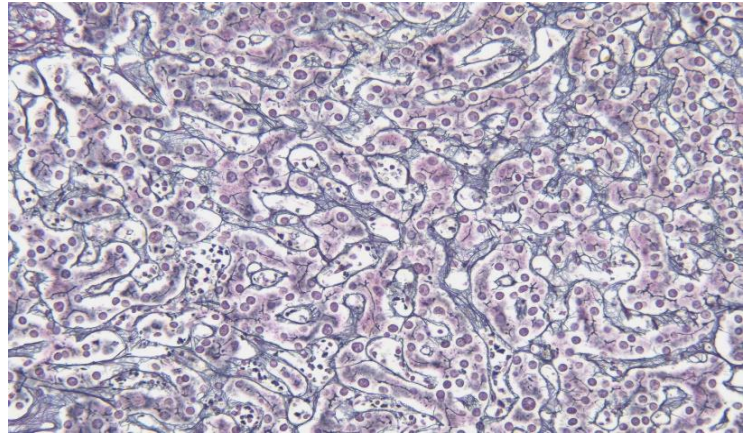
《A-a 評価プロトコル(用手染色)》

① 脱パラフィン	キシレン I ~ III 各 5 分、100%アルコール I ~ III 各 3 分
② 水洗	流水水洗 ⇒ 精製水になじませる
③ 酸化	0.5%過マンガン酸カリウム水溶液 3 分
④ 水洗	軽く流水水洗 ⇒ 精製水になじませる
⑤ 還元	2%シュウ酸水溶液 2 分
⑥ 水洗	流水水洗 5 分 ⇒ 精製水になじませる
⑦ 増感	2%鉄ミョウバン水溶液 50 秒
⑧ 水洗	流水水洗 5 分 ⇒ 精製水 2 分 × 2 回
⑨ 銀アンモニア錯体との反応	アンモニア銀液 10 分
⑩ 分別	95%エタノール 約 1 秒
⑪ 還元	還元液 2 分
⑫ 水洗	流水水洗 ⇒ 精製水になじませる
⑬ 調色	0.2%塩化金水溶液 60 分
⑭ 水洗	軽く流水水洗 ⇒ 精製水になじませる
⑮ シュウ酸処理	2%シュウ酸水溶液 2 分
⑯ 水洗	流水水洗 ⇒ 精製水になじませる
⑰ 定着	2%チオ硫酸ナトリウム水溶液 5 分
⑱ 水洗	流水水洗 2 分
⑲ 核染色(後染色)	なし
⑳ 脱水・透徹	100%アルコール I ~ V 各 3 分、キシレン I ~ IV 各 2 分
㉑ 封入	マルチマウント 480

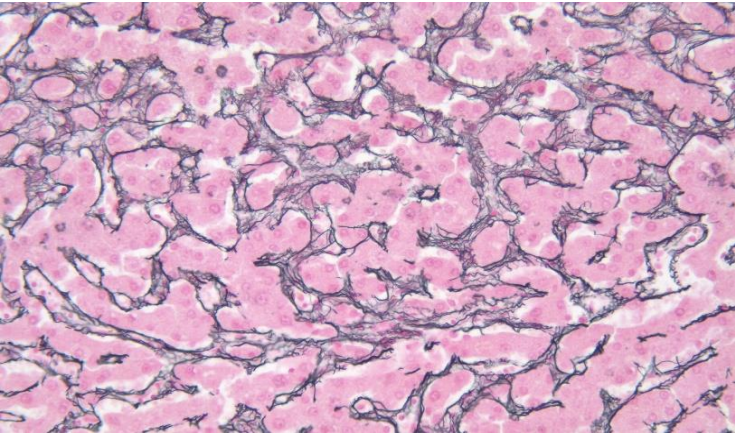
病理検査サーベイ: 鍍銀染色



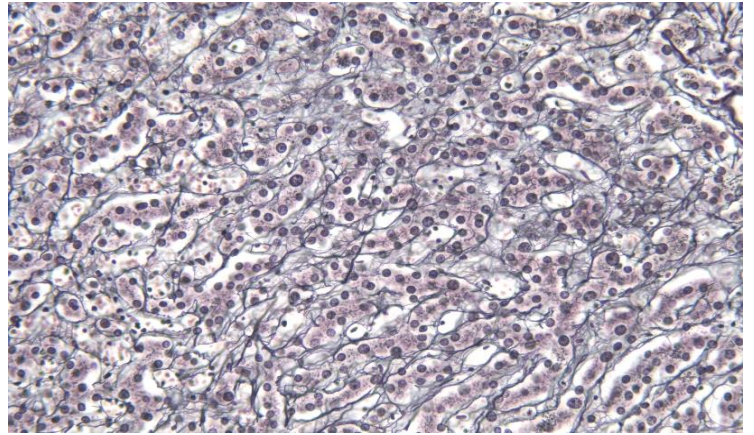
A-a 評価



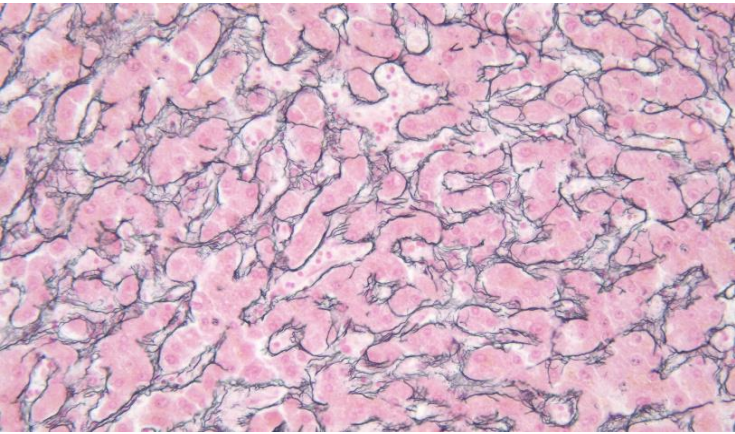
A-a 評価 : 過ヨウ素酸による酸化



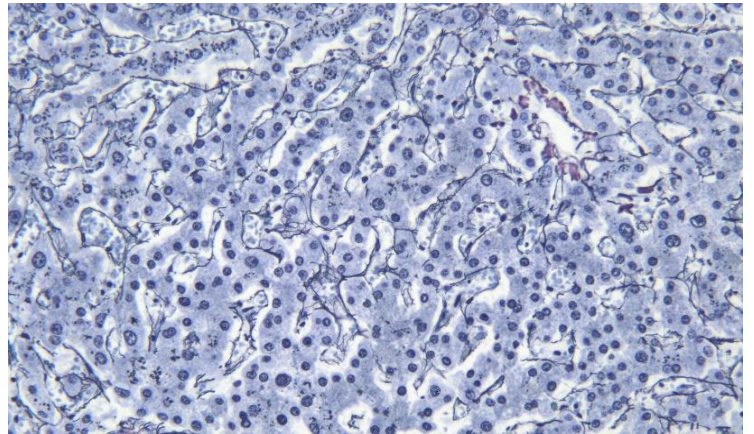
A-a 評価 : 自動染色装置



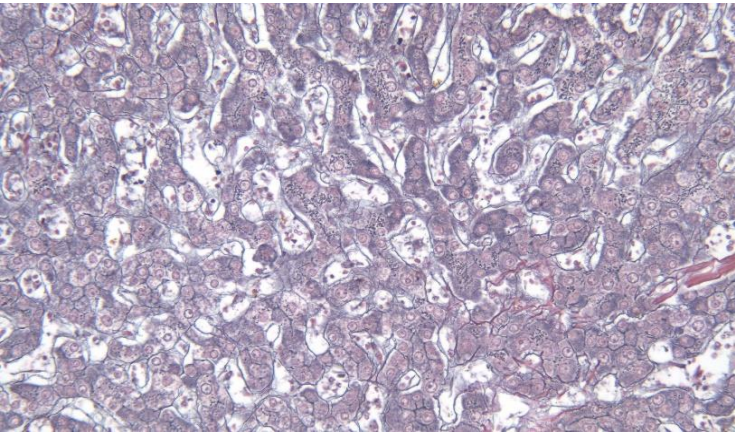
A-b 評価 : 共染、コントラスト不良



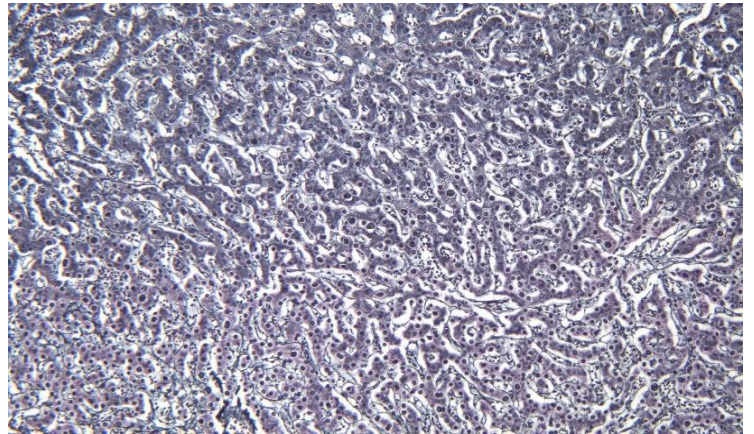
A-b 評価 : 自動染色装置 細網線維の染色性やや弱い



B 評価 : 細網線維の染色性弱い、コントラスト不良



B 評価 : 細網線維の染色性弱い、共染



B 評価 : 共染、コントラスト不良、染色ムラが強い

⑭免疫組織化学染色 (Ki-67 タンパク : Ki-67 染色)

【はじめに】

Ki-67は細胞増殖の程度を表すMIB-1 Index(MIB-1とは抗Ki-67抗体のクローンの1つ)としてよく知られており、一般的に用いられている細胞増殖マーカーである。Ki-67は白血病患者の自己抗体として見出され、増殖性細胞の核小体及び核分裂期の染色体上に発現する機能不全の分子であり、リンパ腫培養株の核分画を抗原として開発された。Ki-67は機能面で不明な点も多く細胞周期の全てのフェーズで発現しており、G1期後期から発現量に変化が現れ、S期で発現量の増加が起こり、M期で最大になるといわれている。そのため、Ki-67の発現がみられた細胞は、細胞周期に入っていることを表しているにすぎない。しかし、Ki-67は乳癌、胃癌、大腸癌、子宮癌など多くの腫瘍において、分化度、血管侵襲およびリンパ節転移といった腫瘍の悪性度や予後とよく相関することが知られており、細胞増殖マーカーとして非常に有用である。

(ニチレイバイオサイエンス 免疫染色玉手箱「細胞増殖マーカーの免疫組織細胞化学」より)

【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(PS-17004)で、各施設に2枚配布し、染色を実施していただいた。同一スライド上に虫垂を対照としてのせているが、評価対象外としている。

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。

【参加施設数】

今回のKi-67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23施設(59.0%)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16施設(41.0%)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 (Ki-67タンパク) 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	23	16	0
(%)	59.0 %	41.0 %	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 免疫染色 (Ki-67タンパク) 評価一覧

施設番号	評価	寸評
9270069	A	
9280001	B	染色が薄い
9280002	A	
9280003	B	過染あり
9280033	A	
9280035	A	
9280051	A	
9280059	A	
9280060	B	過染あり。染色が薄い。ヘマトキシリン染色が濃い。
9280083	A	
9280091	B	過染あり
9280092	B	過染あり
9280095	B	過染あり
9280099	B	非特異反応が強い
9280100	A	
9280115	A	
9280117	B	過染あり。評価に注意が必要。
9280124	A	
9280125	B	過染あり
9280130	A	
9280135	B	染色性が弱い
9280140	B	過染あり
9280143	A	
9280146	A	
9280148	A	
9280149	B	非特異反応が強い
9280162	B	過染あり
9280164	B	過染あり
9280169	A	
9280187	B	過染あり
9280280	B	過染あり
9280322	A	
9280390	A	やや過染色である
9280417	A	
9280537	A	
9780014	A	
9780032	A	
9780060	A	
9780066	A	

【講評およびまとめ】

令和3年度の免疫染色サーベイでは、Ki-67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23施設、「B」が16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、Ki-67(+)が1つ、Ki-67(-)が1つの合計2つのスポットがあった。Ki-67(+)スポットでは、基準となるインデックススコアがないため、各一次抗体メーカーの染色性を参考とした。ライカ社のクローン(MM1)は、他のメーカーより弱い染色性であったが、ライカ社としては認知しており、ユーザーへの周知は行っているとのことであった。Ki-67(-)スポットではいずれのメーカーも過染色はなかった。Ki-67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。今回使用したコントロールスライドは対象検体自体がフロスト部分に近く、自動免疫染色装置によっては染色が難しい場所であった。特に、ライカ社の自動免疫染色装置は原理上、スライドガラスのフロストに近い部分は染色が難しい。その為、ライカ社の自動免疫染色装置を使用した施設に関しては、その点を考慮して評価を行った。

今回B 評価であった16施設のうち、14施設ではKi-67(+)スポットの過染色による評価であった。過染色によりB 評価であった14施設のうち、10施設がロシュ社の自動免疫染色装置、2施設がライカ社の自動免疫染色装置を使用していた。同じ装置を使用しているA 評価の施設とプロトコールを比較したが、抗原賦活化処理や反応時間、一次抗体などに明らかな違いはみられなかった。調整可能な条件は、抗原賦活化処理時間や一次抗体の希釈倍率である。あまりに非特異反応が強い場合はブロッキングを使用するのも有用と思われる。過染による他のB 評価の1施設では、用手法で染色を行っており、恒温槽での賦活化処理を行っている。処理時間や詳細のプロトコールは不明であるため、原因究明は難しかった。更に他のB 評価の1施設は、過染に加え、カウンター染色の染色性が強いため、Ki-67の染色性がより弱くないしは薄くみえると考えられた。

染色性が弱い2施設のうちの1施設は、希釈済みの一次抗体を更に希釈して使用していることが原因と考えられた。もう1施設は、対象検体がフロストに近いために起こる自動免疫染色装置の特性に起因する問題と考えられた。

Ki-67は評価をKi-67スコアリング(MIB-1 Index)で行うため、染色性の強度が診断に影響する。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。改善のためであっても現在自施設で行っているプロトコールの変更は慎重に行わなければならない。しかしながら、検体の良悪性に関する問題であるため、B 評価の施設に関しては、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】

Ki-67 染色の精度管理における結果は、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技師の皆様にご挨拶申し上げます。

(文責：病理・細胞検査研究班)

Ki-67 染色方法についての集計

1. 貴施設では1ヶ月何枚位、Ki-67 染色を実施していますか。

染色枚数	施設数	%
10 枚以下	9	23
11～30 枚	17	44
31～50 枚	2	5
51 枚以上	11	28

2. 何 μm で薄切していますか。

厚さ (μm)	施設数	%
2	1	3
～3	14	36
～4	22	56
～5	2	5

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
用手法	5	13

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	3	9
	ベンチマーク GX	8	24
	ベンチマーク ULTRA	11	32
ライカ	BOND MAX	7	20
	BOND III	4	12
ニチレイ	HISTOSTAINER 36A	1	3

(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	MIB-1	18	4	22	57
ロシュ	30-9	11	0	11	28
ライカ	MM1	2	0	2	5
ニチレイ	SP6	3	1	4	10

【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	8	0	8	21
	ultraView DAB ユニバーサルキット	14	0	14	36
ライカ	Bond Polymer Refine Detection	11	0	11	28
ニチレイ	ヒストファイン シンプルステイン MAX-PO (MULTI)	1	5	6	15

(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 CC1 buffer (pH 8.5) 60分 or 64分	17	0
	加熱処理 CC1 buffer (pH 8.5) 30分	2	0
	加熱処理 CC1 buffer (pH 8.5) 記載なし	3	0
ライカ	加熱処理 ER1 (pH6.0) 30分	1	0
	加熱処理 ER2 (pH9.0) 20分	7	0
	加熱処理 ER2 (pH9.0) 記載なし	3	0
ニチレイ	加熱処理 ヒストファイン抗原賦活化液 pH9.0	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	
			16分	10	
	アジレント	希釈済み	16分	1	
			32分	2	
			希釈済み×5	32分	1
			50	32分	1
			100	32分	2
			150	16分	1
			200	16分	1
	記載なし	記載なし	1		
ニチレイ	希釈済み	32分	1		
ライカ染色装置	ライカ	希釈済み	15分	2	
	アジレント	希釈済み	15分	2	
		100	15分	2	
		200	30分	1	
		300	15分	1	
		500	15分	1	
		800	15分	1	
	ニチレイ	希釈済み	記載なし	1	
ニチレイ	ニチレイ	希釈済み	30分	1	
用手法	ニチレイ	希釈済み	30分	1	
	アジレント	希釈済み	30分	2	
		50	40分	1	
		100	30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 (染色薬種)	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	評価
9280146	ヘビチマ-グULTRA	I-VIEW DAB 1:1A-サルキチ	CG1 A977-(ULTRA含む) [pH8.5]	アジレントトカノロジ- (DAKO)	200倍	16分	A
9280100	ヘビチマ-グULTRA	ultraView DAB 1:1A-サルキチ	CG1 A977-(ULTRA含む) [pH8.5]	アジレントトカノロジ- (DAKO)	1倍	16分	A
9280148	ヘビチマ-グULTRA	I-VIEW DAB 1:1A-サルキチ	CG1 A977-(ULTRA含む) [pH8.5]	アジレントトカノロジ- (DAKO)	希釈済み抗体	32分	A
9280083	ヘビチマ-グULTRA	I-VIEW DAB 1:1A-サルキチ	CG1 A977-(ULTRA含む) [pH8.5]	アジレントトカノロジ- (DAKO)	RTU	32分	A
9280125	ヘビチマ-グULTRA	ultraView DAB 1:1A-サルキチ	CG1 A977-(ULTRA含む) [pH8.5]	ロシュ・ダクワリス・テグリス	1倍	16分	B
9280092	ヘビチマ-グULTRA	ultraView DAB 1:1A-サルキチ	CG1 A977-(ULTRA含む) [pH8.5]	ロシュ・ダクワリス・テグリス	原液	16分	B
9280002	ヘビチマ-グULTRA	ultraView DAB 1:1A-サルキチ	CG1 A977-(ULTRA含む) [pH8.5]	アジレントトカノロジ- (DAKO)	×50	32分	A
9280003	ヘビチマ-グULTRA	ultraView DAB 1:1A-サルキチ	CG1 A977-(ULTRA含む) [pH8.5]	アジレントトカノロジ- (DAKO)	希釈済み抗体使用	32分	B
9280032	ヘビチマ-グULTRA	ultraView DAB 1:1A-サルキチ	CG1 A977-(ULTRA含む) [pH8.5]	アジレントトカノロジ- (DAKO)	希釈済み抗体	16分	A
9280140	ヘビチマ-グULTRA	ultraView DAB 1:1A-サルキチ	CG1 A977-(ULTRA含む) [pH8.5]	アジレントトカノロジ- (DAKO)	希釈済み抗体	16分	B
9280162	ヘビチマ-グULTRA	ultraView DAB 1:1A-サルキチ	CG1 A977-(ULTRA含む) [pH8.5]	アジレントトカノロジ- (DAKO)	100倍	32分	B
9280130	ヘビチマ-グULTRA	ultraView DAB 1:1A-サルキチ	CG1 A977-(ULTRA含む) [pH8.5]	アジレントトカノロジ- (DAKO)	なし	なし	A
9270069	ヘビチマ-グXT	ultraView DAB 1:1A-サルキチ	CG1 A977-(ULTRA含む) [pH8.5]	アジレントトカノロジ- (DAKO)	希釈済み抗体	16分	A
9280066	ヘビチマ-グXT	ultraView DAB 1:1A-サルキチ	CG1 A977-(ULTRA含む) [pH8.5]	アジレントトカノロジ- (DAKO)	原液を100倍希釈	32分	A
9280035	ヘビチマ-グXT	I-VIEW DAB 1:1A-サルキチ	CG1 A977-(ULTRA含む) [pH8.5]	ロシュ・ダクワリス・テグリス	希釈済み抗体	16分	A
9280099	ヘビチマ-グXT	ultraView DAB 1:1A-サルキチ	CG1 A977-(ULTRA含む) [pH8.5]	ロシュ・ダクワリス・テグリス	希釈済み抗体	16分	B
9280164	ヘビチマ-グXT	ultraView DAB 1:1A-サルキチ	CG1 A977-(ULTRA含む) [pH8.5]	ロシュ・ダクワリス・テグリス	希釈済み抗体	10分	B
9280095	ヘビチマ-グXT	I-VIEW DAB 1:1A-サルキチ	CG1 A977-(ULTRA含む) [pH8.5]	ロシュ・ダクワリス・テグリス	希釈済み抗体	16分	B
9280001	ヘビチマ-グXT	ultraView DAB 1:1A-サルキチ	CG1 A977-(ULTRA含む) [pH8.5]	アジレントトカノロジ- (DAKO)	調整済み抗体を5倍	32分	B
9280149	ヘビチマ-グXT	ultraView DAB 1:1A-サルキチ	CG1 A977-(ULTRA含む) [pH8.5]	ロシュ・ダクワリス・テグリス	調整済み抗体	16分	B
9280280	ヘビチマ-グXT	I-VIEW DAB 1:1A-サルキチ	CG1 A977-(ULTRA含む) [pH8.5]	アジレントトカノロジ- (DAKO)	RTU	16分	A
9280059	BOND MAX	Bond Polymer Refine Detection	BOND Epitope Retrieval Solution 2 [pH9]	アジレントトカノロジ- (DAKO)	希釈済み抗体	15分	B
9280169	BOND MAX	Bond Polymer Refine Detection	BOND Epitope Retrieval Solution 2 [pH9]	アジレントトカノロジ- (DAKO)	800倍	15分	A
9280322	BOND MAX	Bond Polymer Refine Detection	BOND Epitope Retrieval Solution 2 [pH9]	アジレントトカノロジ- (DAKO)	1:500	15分	A
9280417	BOND MAX	Bond Polymer Refine Detection	BOND Epitope Retrieval Solution 1 [pH6]	アジレントトカノロジ- (DAKO)	200倍	30分	A
9280537	BOND MAX	Bond Polymer Refine Detection	BOND Epitope Retrieval Solution 2 [pH9]	ニチレイ/イオサイエンス	100倍	15分	A
9280124	BOND MAX	Bond Polymer Refine Detection	BOND Epitope Retrieval Solution 2 [pH9]	アジレントトカノロジ- (DAKO)	100倍	15分	A
9280014	BOND MAX	Bond Polymer Refine Detection	BOND Epitope Retrieval Solution 2 [pH9]	アジレントトカノロジ- (DAKO)	300倍	15分	B
9280091	BOND III	Bond Polymer Refine Detection	BOND Epitope Retrieval Solution 2 [pH9]	アジレントトカノロジ- (DAKO)	200倍	15分	A
9280390	BOND III	Bond Polymer Refine Detection	BOND Epitope Retrieval Solution 2 [pH9]	ライカマイクログリス・テムス	希釈済み抗体	15分	A
9280060	BOND III	Bond Polymer Refine Detection	BOND Epitope Retrieval Solution 2 [pH9]	アジレントトカノロジ- (DAKO)	希釈済み抗体	15分	A
9280117	BOND III	Bond Polymer Refine Detection	BOND Epitope Retrieval Solution 2 [pH9]	アジレントトカノロジ- (DAKO)	希釈済み抗体	15分	B
9280135	HISTOSTAINER 36A	ヒストステイン MAX- PO(MULTI)-DAB基質キット	ニチレイ エピトプライン 抗原賦活化液 [pH9]	ニチレイ/イオサイエンス	希釈してない	30分	B
9280060	用手法	ヒストステイン MAX- PO(MULTI)-DAB基質キット	ニチレイ エピトプライン 抗原賦活化液 [pH9]	アジレントトカノロジ- (DAKO)	希釈済み抗体	30分	B
9280051	用手法	ヒストステイン MAX- PO(MULTI)-DAB基質キット	ニチレイ エピトプライン 抗原賦活化液 [pH9]	アジレントトカノロジ- (DAKO)	希釈なし	30分	A
9280115	用手法	ヒストステイン MAX- PO(MULTI)-DAB基質キット	ニチレイ エピトプライン 抗原賦活化液 [pH9]	アジレントトカノロジ- (DAKO)	100倍	30分	A
9280143	用手法	ヒストステイン MAX- PO(MULTI)-DAB基質キット	ニチレイ エピトプライン 抗原賦活化液 [pH9]	ニチレイ/イオサイエンス	希釈済み抗体	30分	A
9280187	用手法	ヒストステイン MAX- PO(MULTI)-DAB基質キット	ニチレイ エピトプライン 抗原賦活化液 [pH9]	アジレントトカノロジ- (DAKO)	50倍	40分	B

Ki-67 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	37
10% ホルマリン	1
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	29
10 分以内	0
30 分以内	2
1 時間以内	1
不明	7

3. 固定時間

固定時間	施設数
5 時間以内	1
12 時間以内	5
24 時間以内	16
48 時間以内	13
72 時間以内	3
記載なし	1

4. コントロールの有無

	施設数	自動染色	用手法
あり	28	25	3
なし	11	9	2

コントロールの材料

材料	施設数
虫垂	9
マルチコントロール	4
扁桃	5
消化管(胃)	1
小腸、リンパ管等	1
既知の陽性標本	1
扁桃+虫垂	4
リンパ節	1
大腸癌	1

5. 染色のコツがあれば記入してください。

- ・ロシュのKi-67欠品によりアジレントのMIB1を使用中。通常はロシュの30-9を使用。
- ・乾燥は60°C30分間とし、長時間おくことは避ける。
- ・一次抗体と二次抗体反応後、PBSでよく洗浄する。
- ・賦活時間が長いと市販コントロールの培養細胞が染まらなかったため、賦活時間を短くして再染色しました。

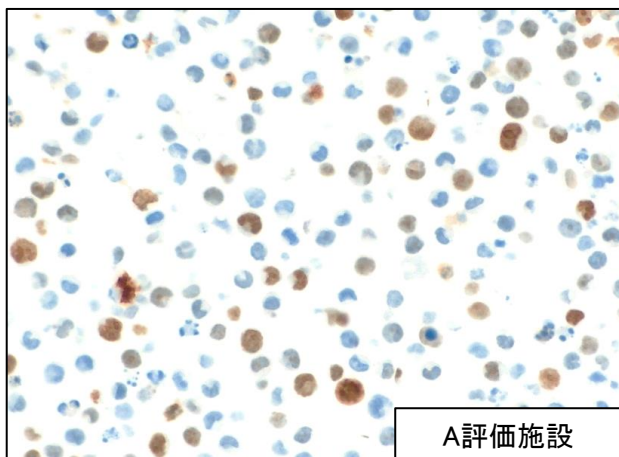
6. 日常業務の免疫組織化学での悩みなどあればご記入してください。

- ・コントロール用検体の確保(特に正常組織に発現が見られない項目)および保管
- ・対照が無い。
- ・免疫染色での標本の剥がれ対策って何かないでしょうか。
乳腺など脂肪の多いものに起こりやすいか。
- ・今回の標本は染色範囲ギリギリに貼り付けてあったことや組織の端が折れていたことにより、折れて2重になった部分にDAB等試薬が溜まった状態に見えるような箇所があります。
- ・コントロール切片の確保が困難。(特にCMV)皆様のご施設ではどうされているのでしょうか。

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。

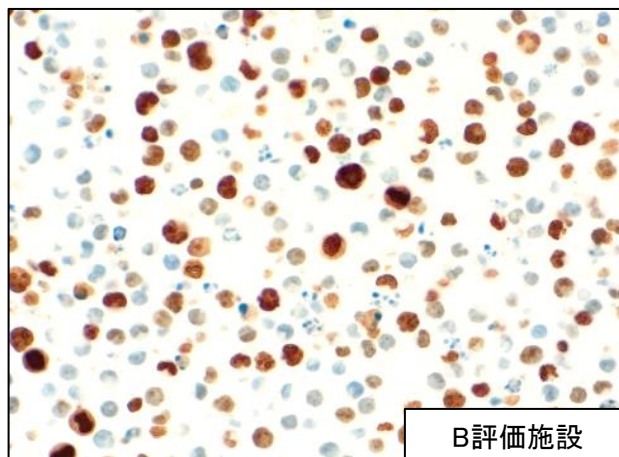
- ・S-100
- ・SMA
- ・p53

免疫染色サーベイ:Ki-67



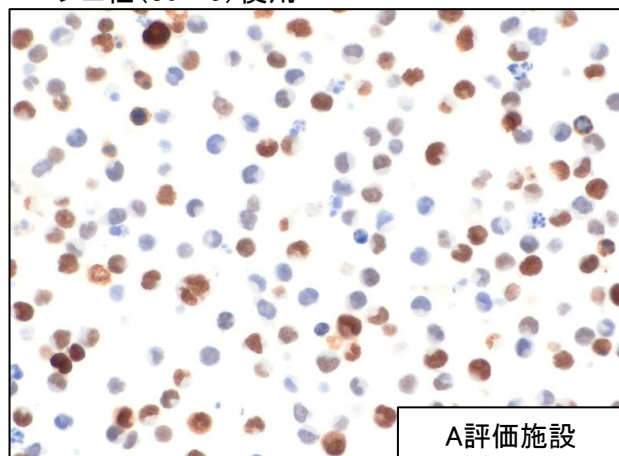
A評価施設

ロシュ社(30-9)使用



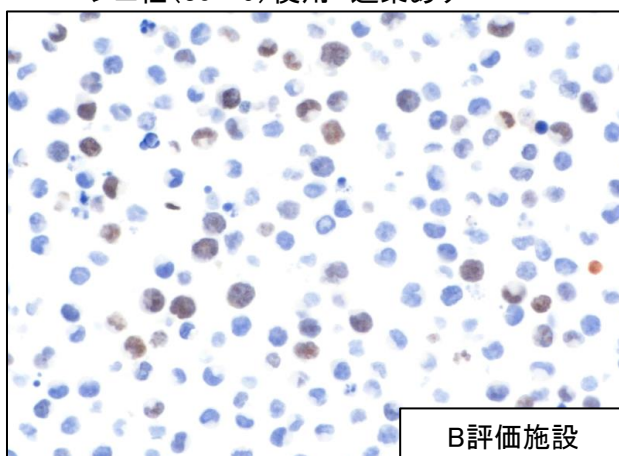
B評価施設

ロシュ社(30-9)使用 過染あり



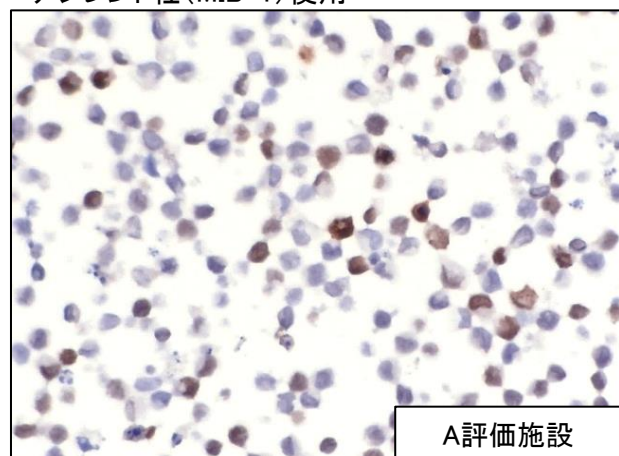
A評価施設

アジレント社(MIB-1)使用



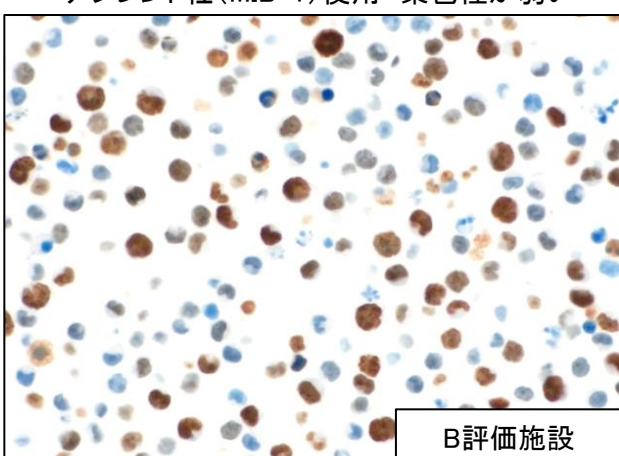
B評価施設

アジレント社(MIB-1)使用 染色性が弱い



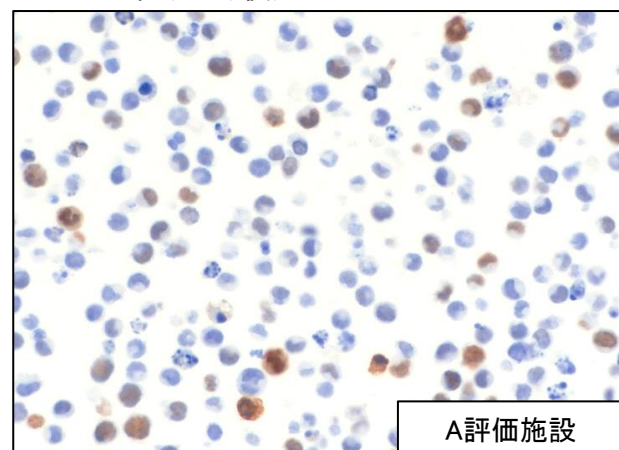
A評価施設

ニチレイ社(SP6)使用



B評価施設

ニチレイ社(SP6)使用 過染あり



A評価施設

ライカ社(MM1)使用

⑮細胞診フォトサーベイ

【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。本年度も細胞診フォトの印刷物を配布せず、Web 掲載のみで実施した。

【サーベイ参加施設数】

申し込み 51 施設に対し回答総数 51 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**では良性、悪性の 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 41 回サーベイ成績の概要・評価基準】

回答総数 51 施設における正答率は判定区分では 99.5%、推定病変では 98.8%、合計では 99.1%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 8 問中 7 問が 100%と高い正答率を示した。正答率が低かったのは設問 2 の 96.1%であった。

推定病変では、設問 2 では萎縮性膣炎と回答した施設が 2 施設となり、正答率も 96.1%と一番低かった。

設問 3 では、腺癌と回答した施設が 1 施設あった。設問 5 では、腺腫様甲状腺腫との回答が 1 施設あった。

また、設問 8 では、骨肉腫との回答が 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。誤字は見られなかった。

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いただきたい。

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] ヘルペス感染細胞

【解説】

炎症性背景に深層型由来と考えられる小型の細胞が出現している。核は、多核で各々が押し合うように接触しており、核圧排像が認められる。また、核クロマチンはスリガラス状を呈し、核縁の肥厚が見られる。好酸性ないし好塩基性の核内封入体もあり、ヘルペス感染細胞と判定するのは可能と考えられる。

設問2 正解： [判定区分] SCC

[推定病変あるいは細胞] 扁平上皮癌

【解説】

弱拡大では、好中球を背景に、角化を示す細胞が孤立散在性に、また、大型の細胞集塊も認められる。少数ではあるが壊死も認められる。強拡大では、黄色の強い、核が濃染した細胞を認め、集塊を構成する細胞には、核の腫大、核クロマチンの増量、核の重積の不揃いが認められる。以上より、扁平上皮癌が考えられる。萎縮性炎症との鑑別点については、孤立の萎縮細胞の細胞質はもう少しオレンジ色が強く、また、集塊は不揃いの重積性を示さずシート状で核間距離も保たれている、などが挙げられる。

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】

小細胞癌は神経内分泌腫瘍に分類され、広範な転移を認めることが多く経過中に脳転移を起こしやすいと言われている。一般的に N/C 比が非常に高く、微細顆粒状のクロマチンが増量し細胞が相互に圧排するような鑄型様配列を呈するとされている。この鑄型様配列は喀痰材料より気管支擦過材料の方が明瞭に観察できるとも言われている。また、核は脆く、標本作製過程で線状になった核線も特徴である。

今回提示した症例は喀痰材料で、N/C 比が非常に高く、微細顆粒状のクロマチンが増量し、上記の鑄型様配列も認められることから小細胞癌と診断できる。

鑑別疾患としては同じ神経内分泌腫瘍に分類される大細胞神経内分泌癌や悪性リンパ腫などが挙げられる。大細胞神経内分泌癌では、小細胞癌と比して細胞の結合が強く、豊富な細胞質を有することや明瞭な核小体を有することで鑑別可能である。しかし、小細胞癌と大細胞神経内分泌癌では細胞形態が酷似している部分もあることから注意が必要である。

悪性リンパ腫はリンパ節の腫瘍性病変でありホジキンリンパ腫と非ホジキンリンパ腫に分けられる。

ホジキンリンパ腫では Reed-Sternberg cell や Hodgkin cell がみられ、mirror image と呼ばれる核が対称に並ぶ

2 核細胞も特徴である。非ホジキンリンパ腫は種々の亜型が存在し、亜型によりその細胞像には著しい差がみられる。基本的な細胞像としては単調な細胞像を呈し、分葉核など核形不整が顕著であり、上皮様結合はみられないことなどと言われており、この様な点で小細胞癌との鑑別は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〕 腺癌(大腸癌の転移)

【解説】

壊死物質を背景に不整形細胞集塊を認める。集塊は類円形や高円柱状の細胞から構成され、細胞配列や核の極性の乱れが目立ち、大小不同、核形不整、核濃染、核小体明瞭化などの細胞異型が明らかである。以上の所見より、悪性で腺癌と判断できると考える。さらに本症例では高円柱状細胞の柵状配列が特徴的であり、臨床所見に「大腸癌の既往あり」と記載されていることから、大腸癌の転移であると推定することが可能であると考えられる。

大腸癌は高円柱状細胞の柵状配列など特徴的な組織像を示す高分化～中分化の割合が高く転移先でも同様の像を示すことが多いため、原発臓器を推定しやすい癌の一つであるが、他の臓器原発でも本症例のような形態を示すことがないとは言えず、既往などを参考にしながら慎重に考える必要がある。

設問5 正解：〔判定区分〕 良性

〔推定病変あるいは細胞〕 嚢胞液(Cyst Fluid)

【解説】

多数の泡沫細胞や変性した赤血球を認める。コロイドや濾胞上皮細胞は認めない。

以上より、嚢胞液を推定できる。

嚢胞(単純性嚢胞)には甲状腺の退行変性により生じる貯留性嚢胞と、上皮細胞で被覆された真性嚢胞とがある。腺腫様甲状腺腫や乳頭癌においても嚢胞形成が目立つ場合(嚢胞性病変)がある。甲状腺の嚢胞(単純性嚢胞)および嚢胞性病変は、多くの場合、腺腫様甲状腺腫の退行性変化によって生じる。

鑑別としては、嚢胞液中に異型のない濾胞上皮細胞や好酸性細胞などを認める場合には単純性嚢胞よりも腺腫様甲状腺腫を考える。しかし、本症例では濾胞上皮細胞を認めないため、細胞像のみで腺腫様甲状腺腫を推定することは困難と考える。

本症例のように泡沫細胞のみみられる嚢胞液は、甲状腺癌取扱い規約第7版(2015)では「嚢胞液」に分類され、ほとんどは良性の嚢胞に由来するが、甲状腺ベセスダシステムでは嚢胞性乳頭癌の可能性が否定できないとして「不適正」に分類されている。

設問6 正解：〔判定区分〕 悪性

〔推定病変あるいは細胞〕 粘液癌

【解説】

弱拡大では、ライトグリーンやオレンジGに染まった粘液を背景に、多数の島状の細胞集塊を認める。強拡大では結合性の良好な大型の上皮細胞集塊が認められる。いわゆる浮雲状、浮き島状に例えられる細胞像である。粘液癌と考える。

設問7 正解： [判定区分] 悪性
[推定病変あるいは細胞] 腺癌

【解説】

淡い細胞質で結合性がある異型細胞が、多数の細胞集塊で認められる。これらの異型細胞には大小不同や核形の不整、クロマチン増量などが認められる。

また核の偏在性も見られることから、腺癌と推定される。
今回の症例は、手術検体の結果から考えると卵巣の漿液性癌であったが、細胞診だけでは組織型の推定は困難と思われたため、印環細胞癌や明細胞癌も正解とした。

設問8 正解： [判定区分] 悪性
[推定病変あるいは細胞] 軟骨肉腫

【解説】

腫瘍細胞は、孤立性から小集塊状に出現し、類円形で多形性に乏しい。細胞質は泡沫状で、核の周辺が空胞状を呈する。核は小型で中心性に存在し、2核の腫瘍細胞もみられる。クロマチンは細顆粒状で小型の核小体が認められる。背景には、ヘマトキシリンに淡染する境界不明瞭な軟骨基質がみられる。軟骨基質はしばしば骨肉腫でも認められるが、骨肉腫では軟骨肉腫に比べて細胞個々の異型性が強く、多彩な形状を呈する点が重要な鑑別点となる。軟骨基質とともに類骨を伴い、高度の異型細胞を認めた場合は、軟骨肉腫より骨肉腫を疑うべきである。また、軟骨肉腫は中高年の骨盤や肋骨に好発するが、骨肉腫は10代の大腿骨遠位部と脛骨近位部などに好発する。

【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
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
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
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**では良性、悪性の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択にしたのもその一因と思われた。しかし設問2で良悪の判定を間違った施設があった。実施状況調査及び改善報告書にて是正処置に協力していただいた。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3では1施設、設問8では1施設、組織型間違いがあったが、悪性と診断はできており、臨床上問題はないと考えた。

また、設問5でも1施設、組織型間違いがあったが、良性と診断できており、こちらも臨床上問題ないと考えた。

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7題、まれにみられる症例として1題提示した。【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。

今後も**判定区分**は選択式とするが、**推定病変**に関しても現在の記述式から選択式への移行を考慮しており、今後の課題としてとらえている。しかし**推定病変**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になることがあり、最新の規約に対応できているかを見るために記述式として残していく事も必要ではないかとも考えている。

今回の設問では、子宮頸部2例・呼吸器1例、体腔液1例、消化器1例、乳腺1例、甲状腺1例、非上皮組織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。

判定区分における平均正答率は99.5%と高かった。今回も判定区分での入力ミスはなかった。

推定病変における平均正答率は98.8%であった。誤字脱字は見られなかった。設問2で扁平上皮癌を萎縮性膀胱炎とした施設があった。これらの施設に対しては上記でも述べたが実施状況調査及び改善報告書にて改善を図っている。

【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、今回の良悪の判定間違いによりC評価となった施設は、今回写真のみの判定で、さらによく似た特徴を示している点もあったので判定に苦慮したと考えられる。日常判定ではスライド全体を見ることができ、また、判定困難等で報告、または生検を勧めたりできるので、通常の業務では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ような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、考えが合ってもその答えにたどりつくとは限らないので、C判定だから間違っているというわけではないと考えている。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、協力していただいている事について大変感謝している。

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は御礼申し上げます。

(文責:病理・細胞検査研究班)

表 1

回答 51 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	51	100%	51	100%
2	49	96.1%	49	96.1%
3	51	100%	50	98.0%
4	51	100%	51	100%
5	51	100%	50	98.0%
6	51	100%	51	100%
7	51	100%	51	100%
8	51	100%	50	98.0%
平均	50.8	99.5%	50.4	98.8%

表 2

回答 51 施設

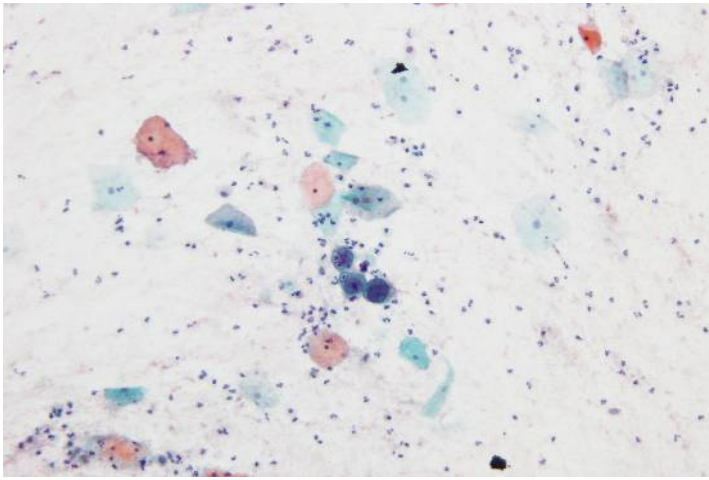
設問		判定区分		推定病変		
		NILM 陰性	HSIL 陽性	1 位	2 位	3 位
1	回答数 (回答率)	51 (100%)	0 (0%)	ヘルペス 感染細胞 32 (62.8%)	ヘルペスウイルス 感染細胞 9 (17.6%)	ヘルペス感染 4 (7.8%)
2	回答数 (回答率)	2 (3.9%)	49 (96.1%)	扁平上皮癌 49 (96.1%)	萎縮性膀胱炎 2 (3.9%)	—
3	回答数 (回答率)	0 (0%)	51 (100%)	小細胞癌 50 (98.0%)	腺癌 1 (2.0%)	—
4	回答数 (回答率)	0 (0%)	51 (100%)	腺癌 16 (31.4%)	大腸癌の転移 14 (27.5%)	腺癌 (大腸癌転移) 13 (25.5%)
5	回答数 (回答率)	51 (100%)	0 (0%)	嚢胞 41 (80.4%)	泡沫細胞 7 (13.7%)	組織球 1 (2.0%)
6	回答数 (回答率)	0 (0%)	51 (100%)	粘液癌 51 (100%)	—	—
7	回答数 (回答率)	0 (0%)	51 (100%)	腺癌 46 (90.2%)	印環細胞癌 2 (3.9%)	卵巣癌(腺癌) 1 (2.0%)
8	回答数 (回答率)	0 (0%)	51 (100%)	軟骨肉腫 50 (98.0%)	骨肉腫 1 (2.0%)	—

表 3

NO	施設番号	正解率	NO	施設番号	正解率
1	9280153	100%	27	9280417	100%
2	9280059	100%	28	9280020	100%
3	9280162	100%	29	9280092	100%
4	9280060	100%	30	9280060	96.3%
5	9280146	100%	31	9280143	100%
6	9280169	100%	32	9280206	100%
7	9280130	100%	33	9280002	100%
8	9280091	100%	34	9280117	100%
9	9780066	100%	35	9280164	96.3%
10	9280100	100%	36	9280095	100%
11	9270069	100%	37	9280003	100%
12	9280010	100%	38	9280042	100%
13	9280148	100%	39	9280124	100%
14	9280160	100%	40	9280187	100%
15	9280083	100%	41	9280033	100%
16	9280035	87.5%	42	9780032	100%
17	9280209	96.3%	43	9280140	87.5%
18	9280125	100%	44	9280001	100%
19	9280099	100%	45	9280149	100%
20	9280322	100%	46	9280191	100%
21	9280237	100%	47	9280280	100%
22	9280051	100%	48	9280012	100%
23	9280369	100%	49	9280114	100%
24	9280390	100%	50	9780014	100%
25	9280115	100%	51	9280135	100%
26	9280047	100%			

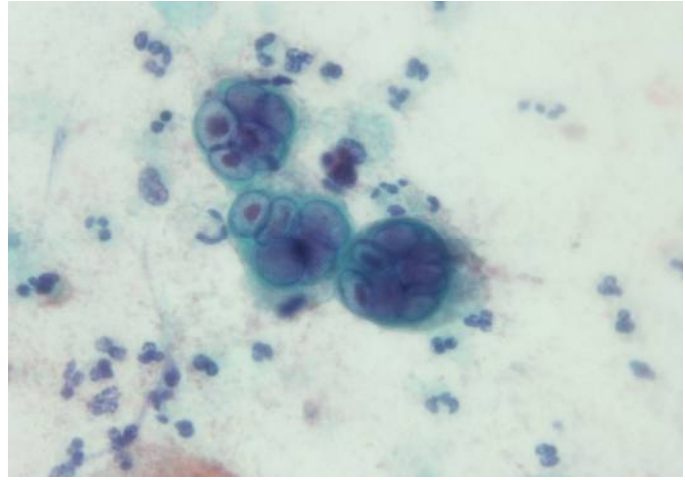
細胞診検査【P1】 フォトサーベイ

設問
1-A



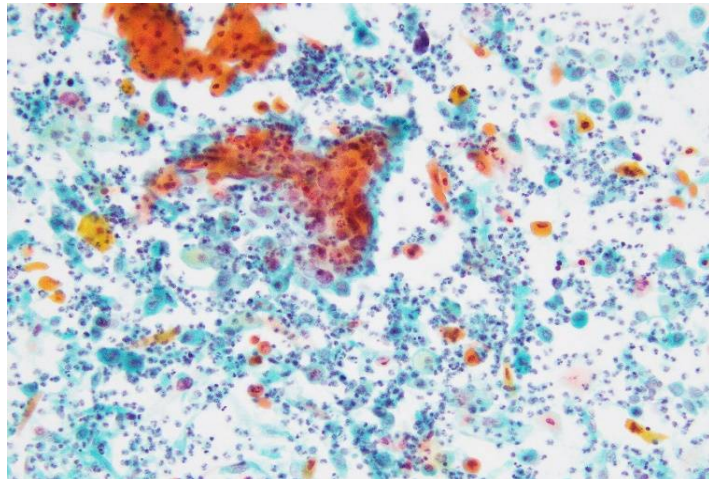
(フォト1-A Pap.染色 弱拡大)

設問
1-B



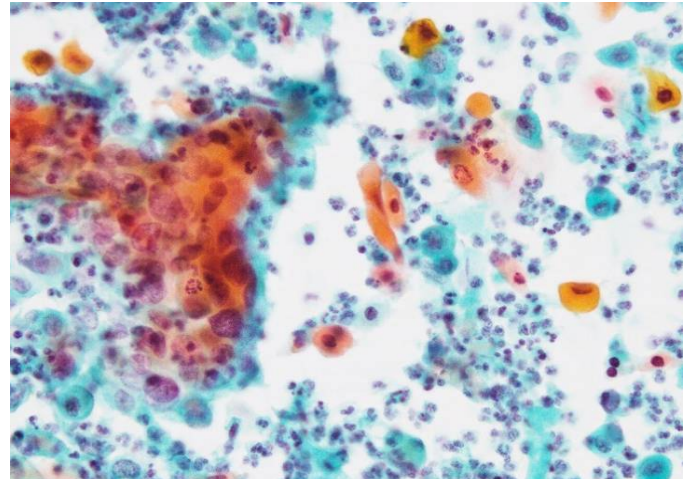
(フォト1-B Pap.染色 強拡大)

設問
2-A



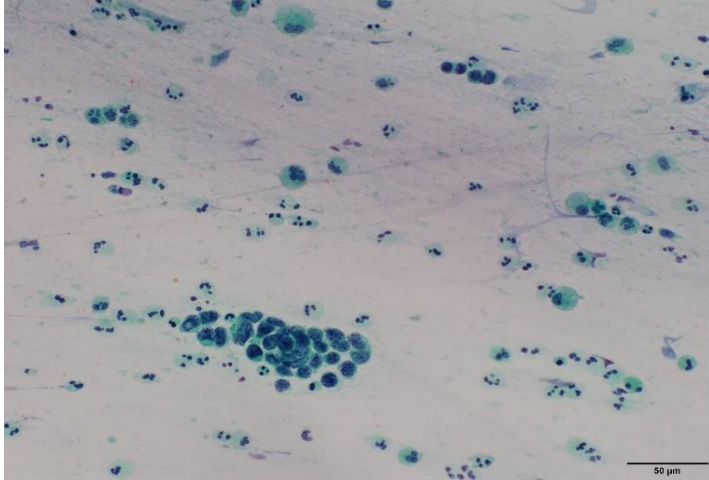
(フォト2-A Pap.染色 弱拡大)

設問
2-B



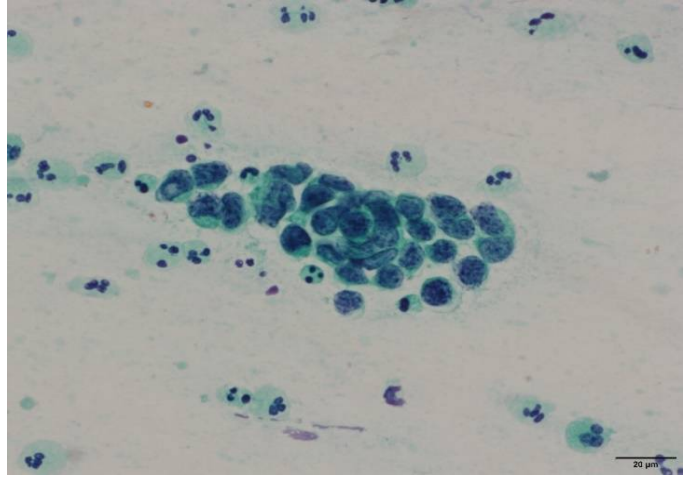
(フォト2-B Pap.染色 強拡大)

設問
3-A



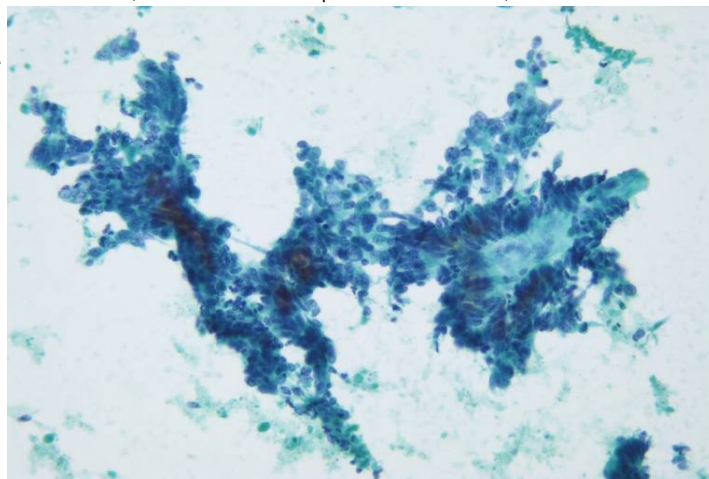
(フォト3-A Pap.染色 弱拡大)

設問
3-B



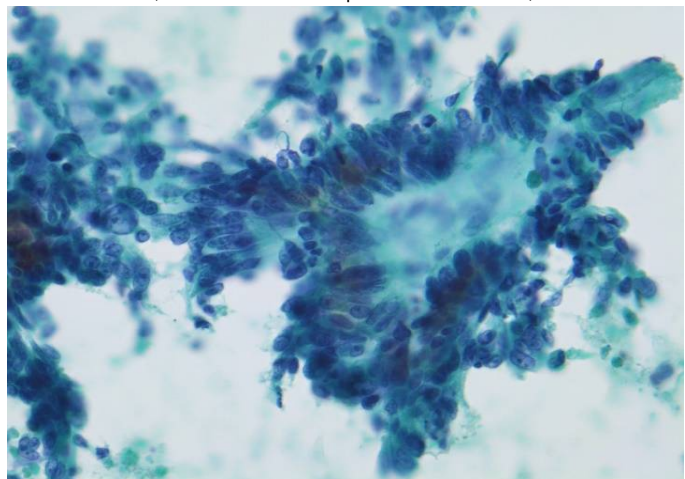
(フォト3-B Pap.染色 強拡大)

設問
4-A



(フォト4-A Pap.染色 弱拡大)

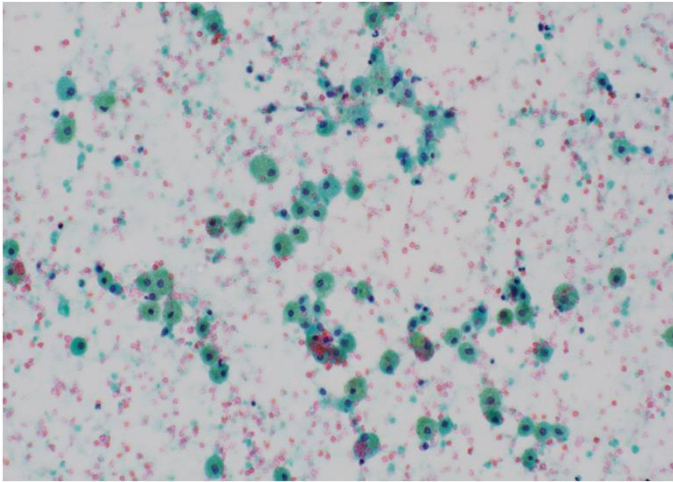
設問
4-B



(フォト4-B Pap.染色 強拡大)

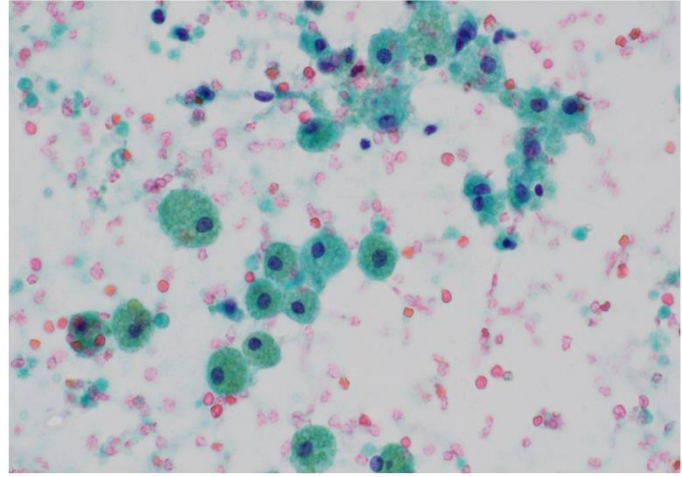
細胞診検査【P1】 フォトサーベイ

設問
5-A



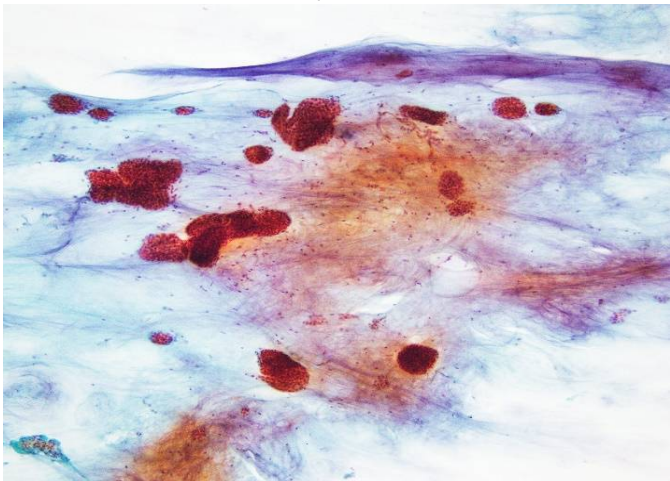
(フォト5-A Pap.染色 弱拡大)

設問
5-B



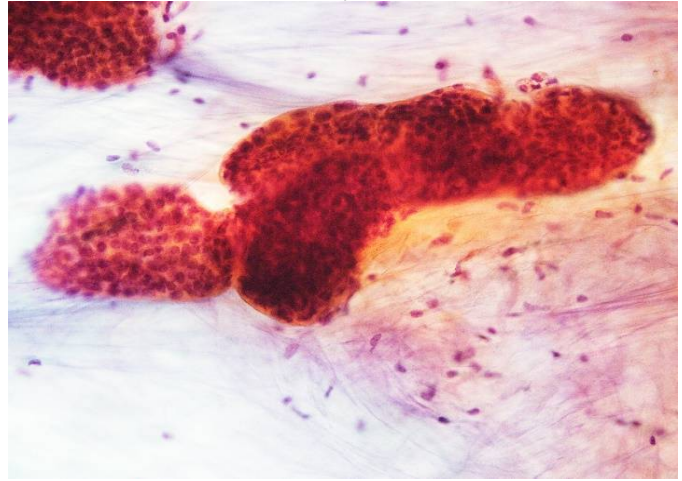
(フォト5-B Pap.染色 強拡大)

設問
6-A



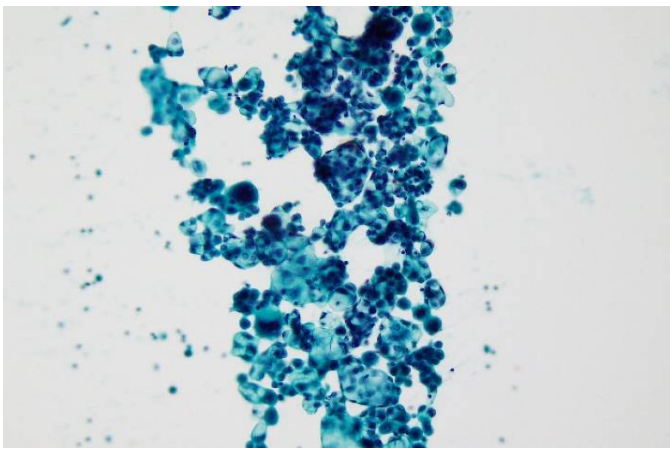
(フォト6-A Pap.染色 弱拡大)

設問
6-B



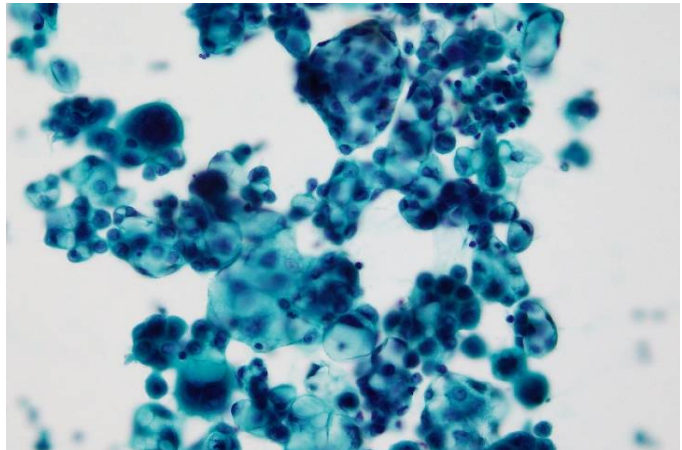
(フォト6-B Pap.染色 強拡大)

設問
7-A



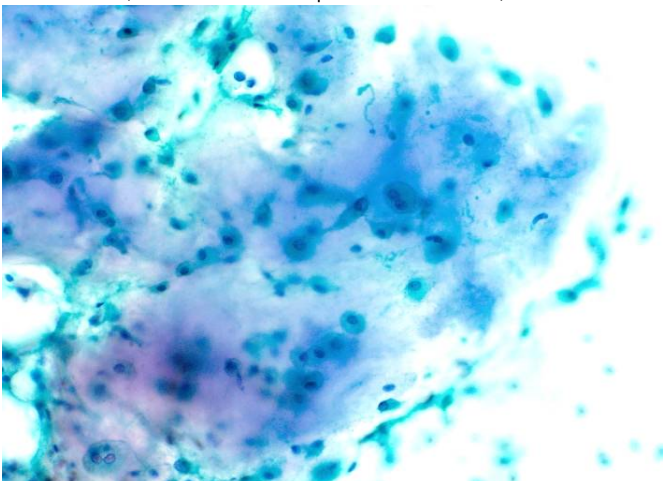
(フォト7-A Pap.染色 弱拡大)

設問
7-B



(フォト7-B Pap.染色 強拡大)

設問
8-A



(フォト8-A Pap.染色 弱拡大)

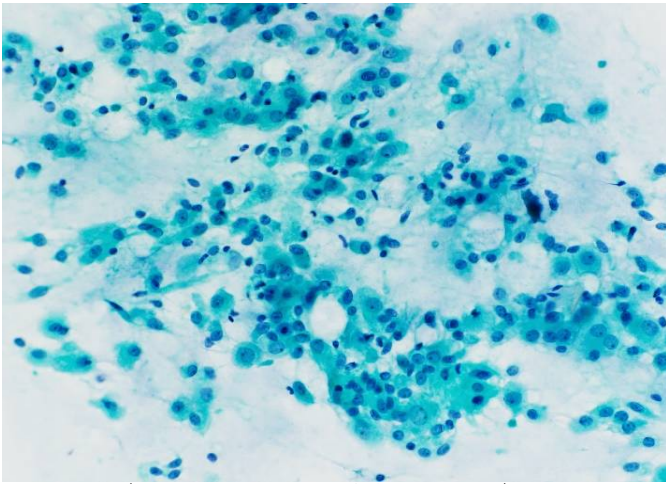
設問
8-B



(フォト8-B Pap.染色 弱拡大)

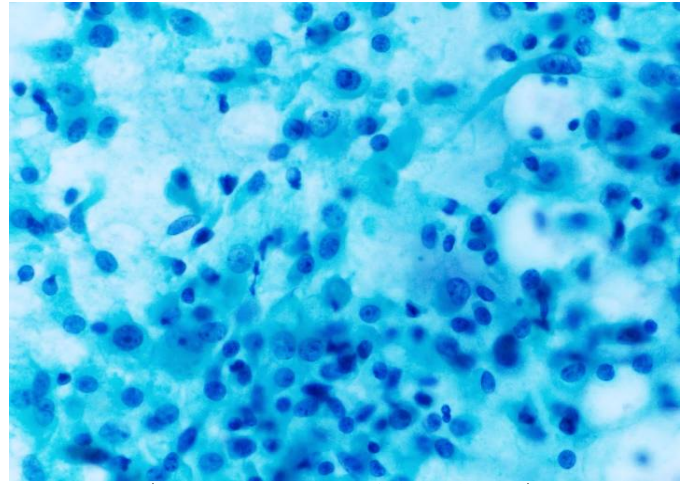
細胞診検査【P1】 フォトサーベイ

設問
8-C



(フォト8-C Pap.染色 弱拡大)

設問
8-D



(フォト8-D Pap.染色 強拡大)