

平成27年度 静岡県臨床検査精度管理調査

病理検査部門

平成27年12月13日
静岡県男女共同参画センター
「あざれあ」

参加施設 24施設

沼津市立病院	藤枝市立総合病院
順天堂大学医学部付属静岡病院	市立島田市民病院
富士市立中央病院	榛原総合病院
富士宮市立病院	静岡徳洲会病院
静岡県立静岡がんセンター	聖隷浜松病院
静岡市立清水病院	中東遠総合医療センター
静岡市立静岡病院	磐田市立総合病院
静岡県立こども病院	浜松労災病院
静岡県立総合病院	浜松赤十字病院
静岡赤十字病院	浜松医療センター
静岡済生会総合病院	聖隷三方原病院
焼津市立総合病院	浜松医科大学医学部附属病院

メーカーサーベイ協力企業

ダコ・ジャパン株式会社
株式会社ニチレイバイオサイエンス
ライカ マイクロシステムズ株式会社
ロッシュ・ダイアグノスティック株式会社

調査内容

- TTF-1,p40,p63抗体の免疫組織化学染色
「病理組織検査サーベイ調査書」
「染色結果の判定」
- アンケート調査
「プレアナリシスにおける作業工程
(固定・脱脂・脱灰)の実態調査」

肺の新WHO分類（第4版）

推奨される免疫組織化学的マーカー

- 腺癌 : TTF-1 , Napsin A
- 扁平上皮癌 : p40 > p63 , CK5/6

質の高い免疫染色

精度管理の重要性

抗体cloneの違いによる染色性の変化と解釈

抗体保有率（事前調査結果）

		○	×	保有率
腺癌 マーカー	TTF-1	23	1	96%
	Napsin A	13	11	54%
	Surfactant apoprotein A	11	13	46%
扁平上皮癌 マーカー	Cytokeratin 5/6	18	6	75%
	Cytokeratin 14	7	17	29%
	p40	13	11	54%
	p63	18	6	75%

配布材料

- ①肺癌組織（肺腺癌 リンパ節転移組織）
- ②肺癌組織（肺扁平上皮癌 リンパ節転移組織）
- ③正常肺組織
- ※①②：10%非緩衝ホルマリン固定
- ※③：20%中性緩衝ホルマリン固定

ティッシュマイクロアレイブロックを作製し、3μm前後で薄切した切片を貼付したシランコーティングスライド5枚

評価判定方法

①染色性評価

9名の病理医に5段階評価として評価していただいた。

(1：診断不適正標本、2：評価困難、3：要努力、4：普通、5：良好)

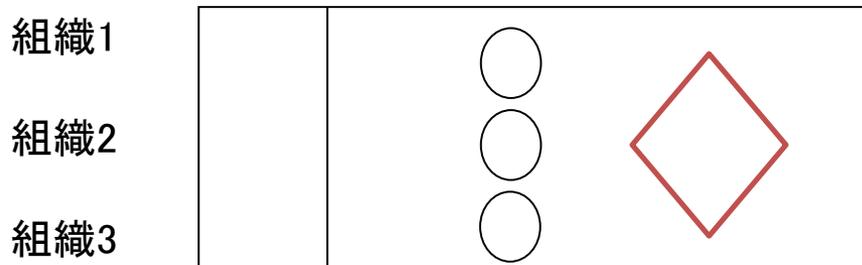
②マイナス評価

「血球の非特異反応の有無」、「背景の非特異反応の有無」、「染色斑の有無」を各々（非特異反応無し：2、診断に影響ない程度に有：1、強い非特異反応：0）と評価し合計6ポイントを3段階評価（A：5～6、B：3～4、C：2以下）とした。

コントロール切片貼付

〈実施のねらい〉

- 各施設が染色性の自己評価を行う際に、普段通りの染色性が得られているか確認する材料とする
- 施設コントロールの染色状態からプレアナリシスの状況を把握する



自施設
コントロール

コントロール切片貼付

〈結果〉

TTF-1

実施あり 19/23施設(83%)

(肺⑧、肺腺癌⑤、甲状腺③)

※調査試料と施設コントロールの染色性に一部乖離あり

p40

実施あり 12/14施設(86%)

(皮膚②、乳腺②、扁桃②、肺②、扁平上皮癌②)

p63

実施あり 15/19施設(79%)

(皮膚③、前立腺③、乳腺②、扁桃②、肺②)

結果判定自己評価について

〈実施のねらい〉

日常業務における染色性の確認と評価

【染色結果の判定方法】

1. 今回の染色結果：核染色とのコントラスト

(通常よりも良好：1、通常と同様：2、通常よりも悪い：3)

2. 今回の染色結果：DAB発色

(通常よりも良好：1、通常と同様：2、通常よりも悪い：3)

3. 今回の染色の自己評価

(通常よりも良好：1、通常と同様：2、通常よりも悪い：3)

今回の三抗体の調査で低評価(3.4以下)となった施設は合計15施設あったが、そのうち13施設(87%)で自己評価「通常と同様」と判定

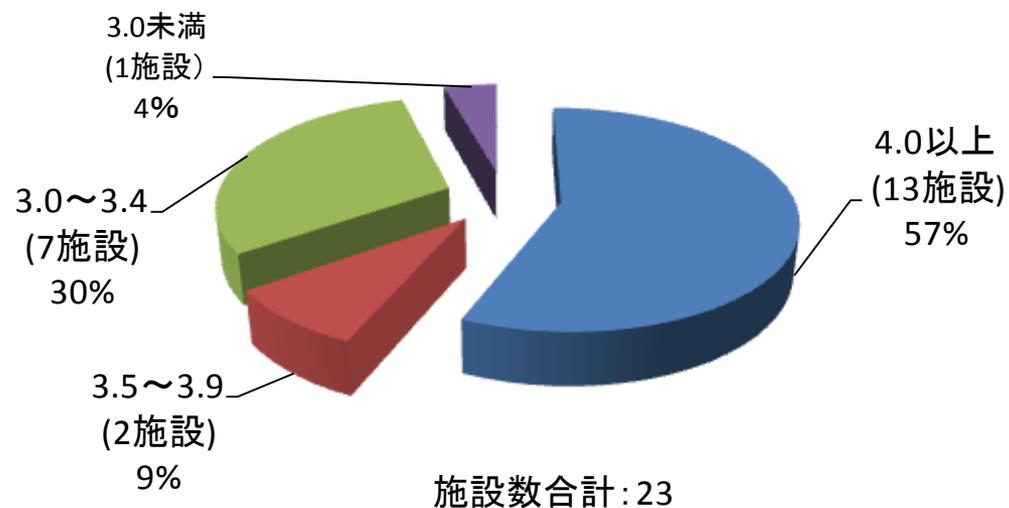
調査回答結果からの集計
TTF-1染色

TTF-1染色 評価判定結果

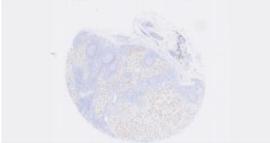
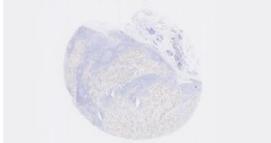
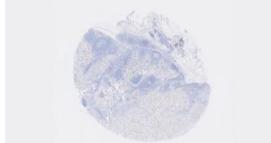
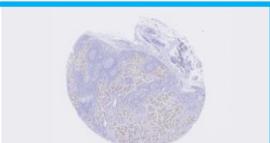
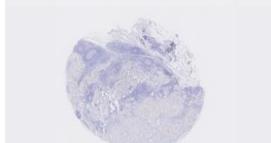
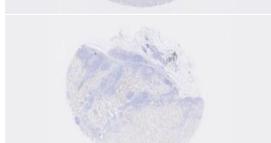
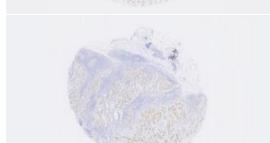
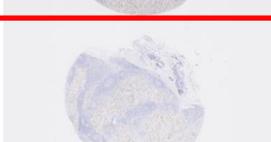
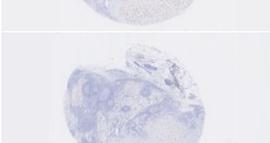
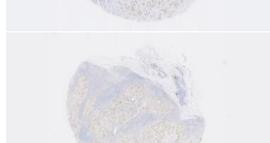
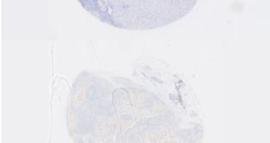
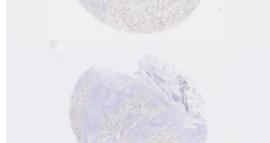
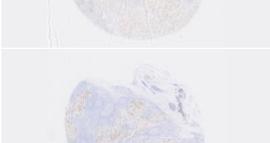
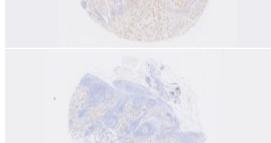
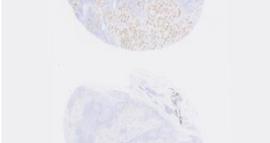
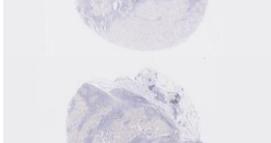
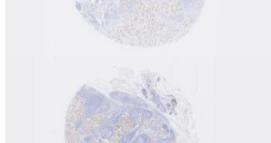
マイナス評価判定別

評価	施設数 (%)
A評価	23 (100%)
B評価	0 (0%)
C評価	0 (0%)

TTF-1染色 評価平均別施設数



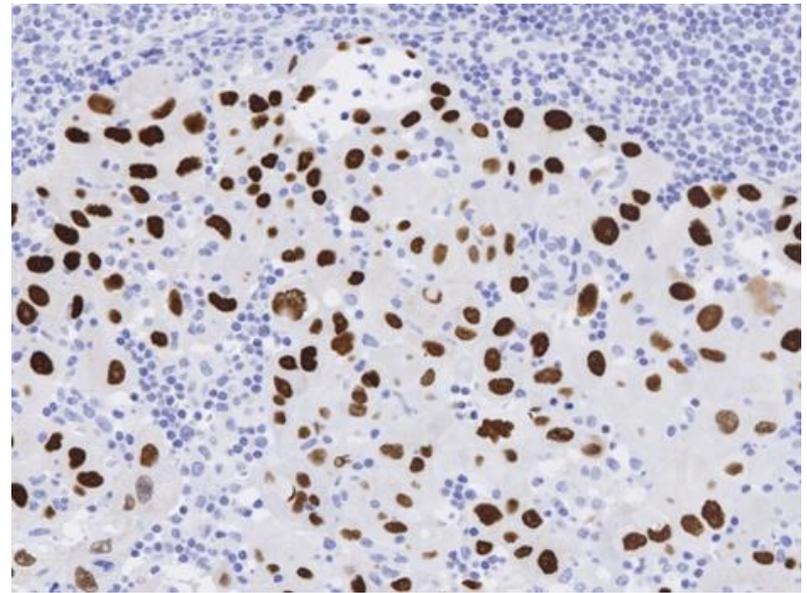
TTF-1染色 染色結果

9220037		9220063		9220088		Roche①	
9220017		9220062		9720018		Roche②	
9220042		9220071		9220118		Leica①	
9220047		9220078		9220101	未実施	Leica②	
9220306		9220253		9220100		DAKO	
9220052		9220084		9220087		Nichirei	
9220060		9220081		9220103			
9220067		9220333		9220090			

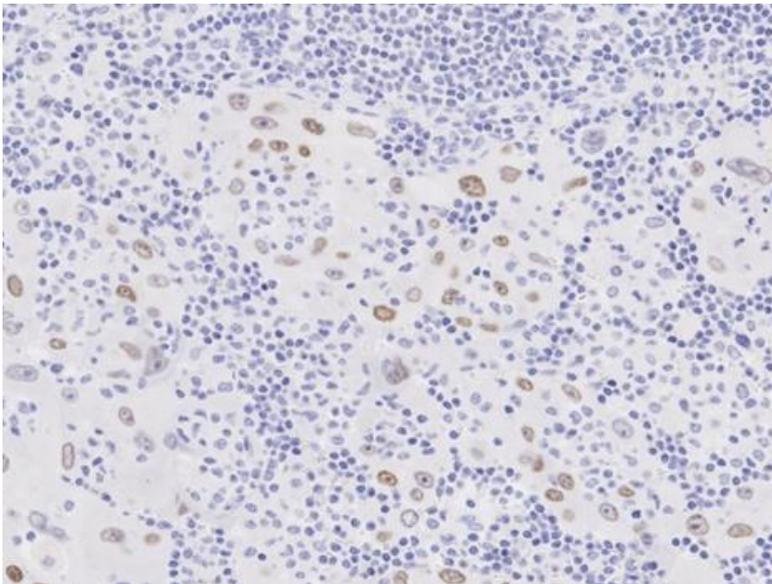
※組織①

TTF-1染色 評価平均別

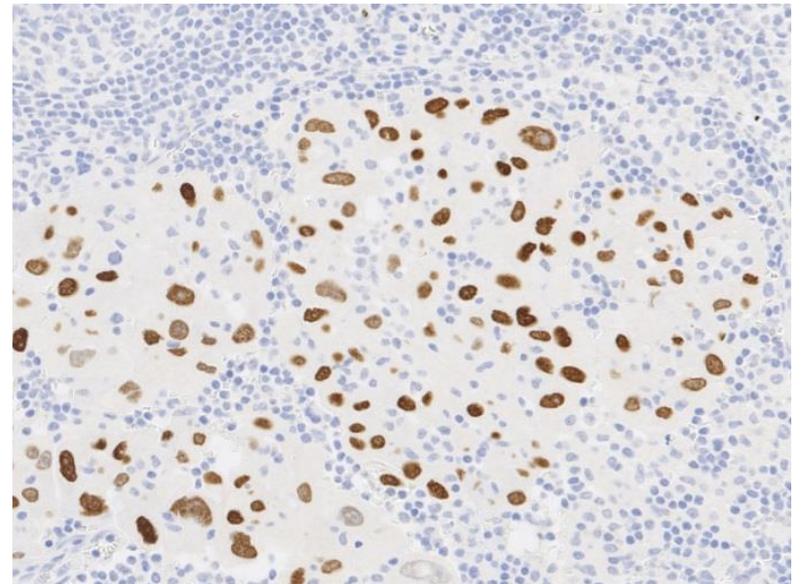
組織① 対物×20倍



評価 4.9



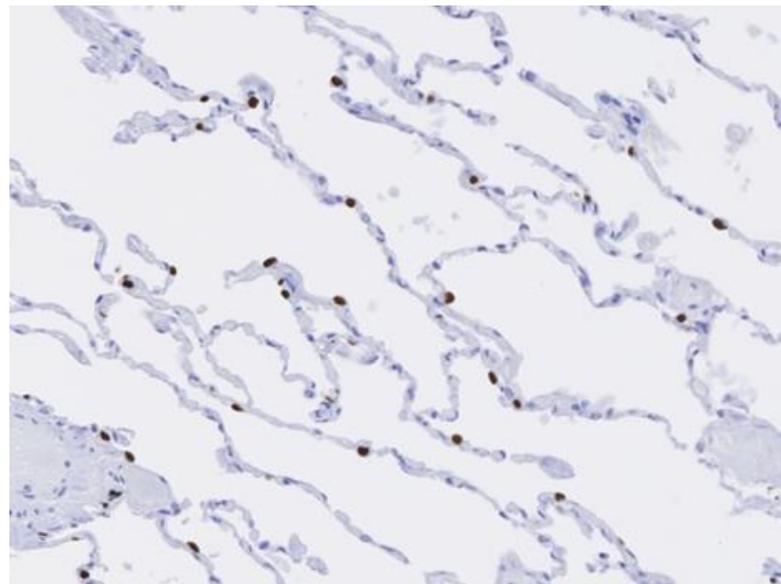
評価 2.4



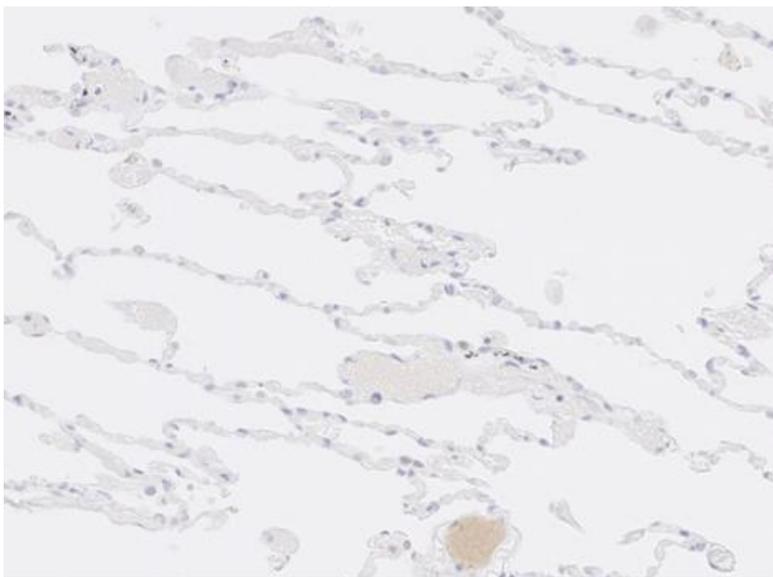
評価 3.8

TTF-1染色 評価平均別

組織③ 対物×20倍



評価 4.9



評価 2.4



評価 3.8

TTF-1染色 まとめ

- 高評価～低評価まで各施設により染色性の差が大きい結果となった
- 「評価困難」と評価された施設が1施設あり、早急な是正処置が必要である

低評価原因 考察

- Colne:8G7G3/1とRoche機器（賦活または検出系試薬）
- 用手法（染色操作に何らかの原因）
- 一次抗体濃度（メーカー推奨濃度より大幅な希釈）
- 使用試薬の調整不良や劣化が染色性に影響を与えた可能性も

文献的考察

TTF-1 cloneによる違い

	Total cases	SPT24	8G7G3/1	P
Lung	374			
<i>Adenocarcinoma</i>	185	134 (72.4%)	121 (65.4%)	0.08
<i>Large Cell</i>	47	22(46.8%)	17(36.2%)	0.201
<i>Carcinoid</i>	23	14(60.8%)	4(17.4%)	0.003
<i>Squamous Cell</i>	97	14(16.8%)	1(1.0%)	0.003
<i>Unclassified</i>	22	10(45.5%)	7(31.8%)	0.26
Bladder	98	5 (5.1%)	5 (5.1%)	NS
Colon	120	3 (2.5%)	3 (2.5%)	NS
Prostate	160	2(1.2%)	2(1.2%)	NS
Stomach	110	1(0.9%)	1(0.9%)	NS
Salivary Gland	56	1(1.8%)	1(1.8%)	NS
Squamous cell carcinoma of head and neck	38	0(0%)	0(0%)	NS
Pancreatic adenocarcinomas	110	0(0%)	0(0%)	NS
Breast	34	0(0%)	0(0%)	NS

NS: not significant

文献的考察

TTF-1 cloneによる違い

Am J Surg Pathol • Volume 39, Number 9, September 2015

Reclassification of Lung Squamous Cell Carcinomas

TABLE 1. Immunohistochemical Profile in Lung Squamous Cell Carcinomas Confirmed With Immunohistochemistry (n = 449)

Marker	Positive (n [%])	Distribution (n [%])		Intensity (n [%])		
		Focal	Diffuse	Weak	Moderate	Strong
p40	449 (100)	13 (3)	436 (97)	3 (1)	36 (8)	410 (91)
p63*	446 (100)	14 (3)	432 (97)	8 (2)	34 (8)	404 (91)
TTF-1 8G7G3/1	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
TTF-1 SPT24†	27 (6)	19 (70)	8 (30)	17 (63)	7 (26)	3 (11)
Napsin A†	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Chromogranin A	45 (10)	41 (91)	4 (9)	40 (89)	4 (9)	1 (2)
Synaptophysin†	17 (4)	16 (94)	1 (6)	11 (65)	5 (29)	1 (6)
CD56	70 (16)	36 (51)	34 (49)	59 (84)	7 (10)	4 (6)

*No tissue microarray core in 3 cases.

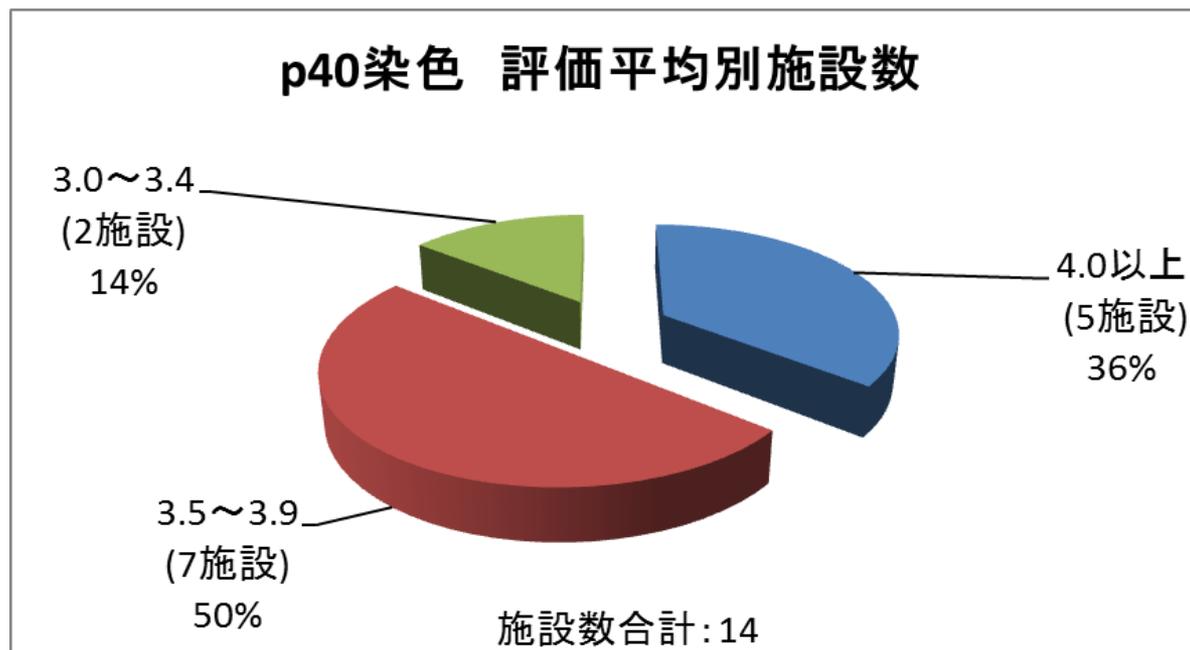
†No tissue microarray core in 1 case.

調査回答結果からの集計
p40染色

p40染色 評価判定結果

マイナス評価判定

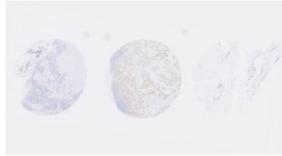
評価	施設数 (%)
A評価	12 (86%)
B評価	2 (14%)
C評価	0 (0%)



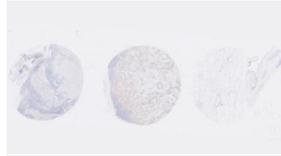
p40染色

染色結果

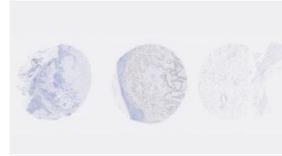
9220037



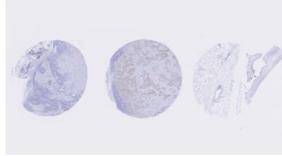
9220063



9220088



9220017



9220062



9720018



9220042

未実施

9220071



9220118



9220047

未実施

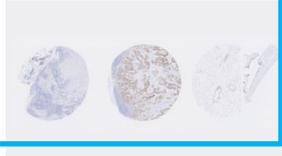
9220078



9220101

未実施

9220306



9220253

未実施

9220100

未実施

9220052

未実施

9220084

未実施

9220087



9220060



9220081

未実施

9220103



9220067

未実施

9220333

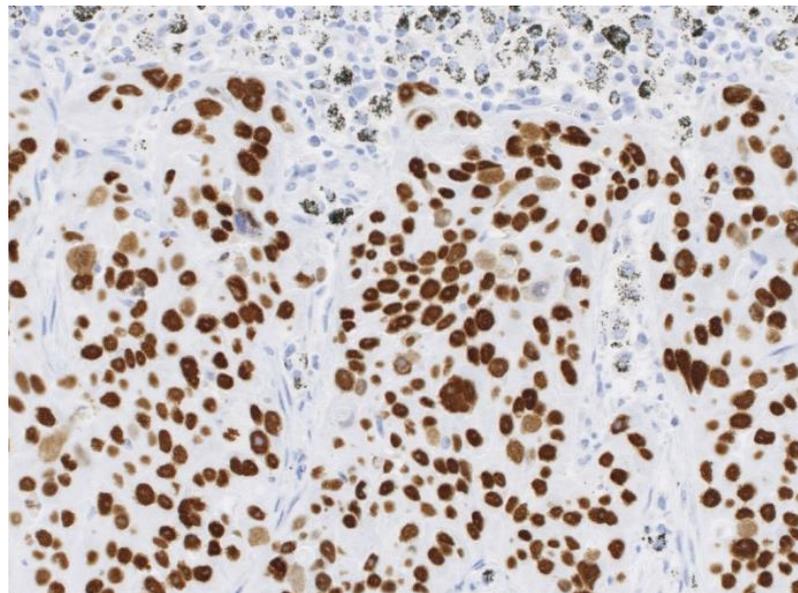
未実施

9220090

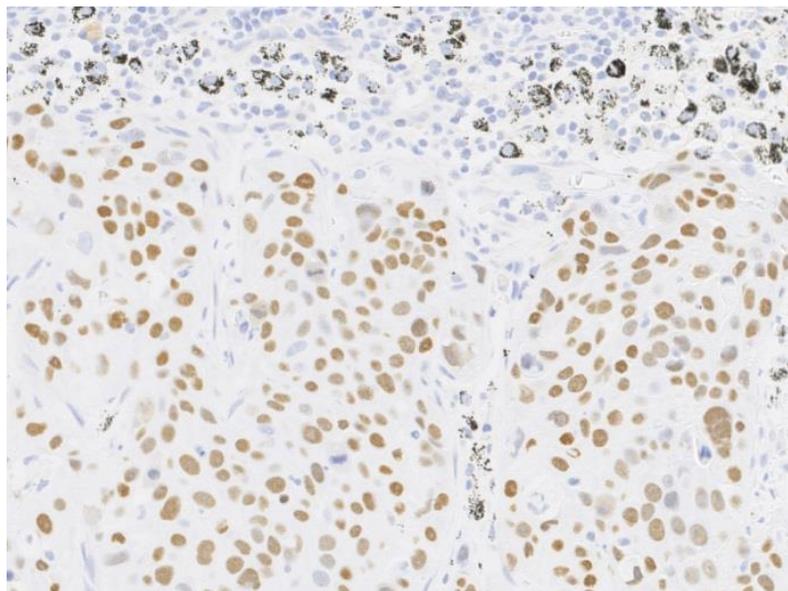


p40染色 評価平均別

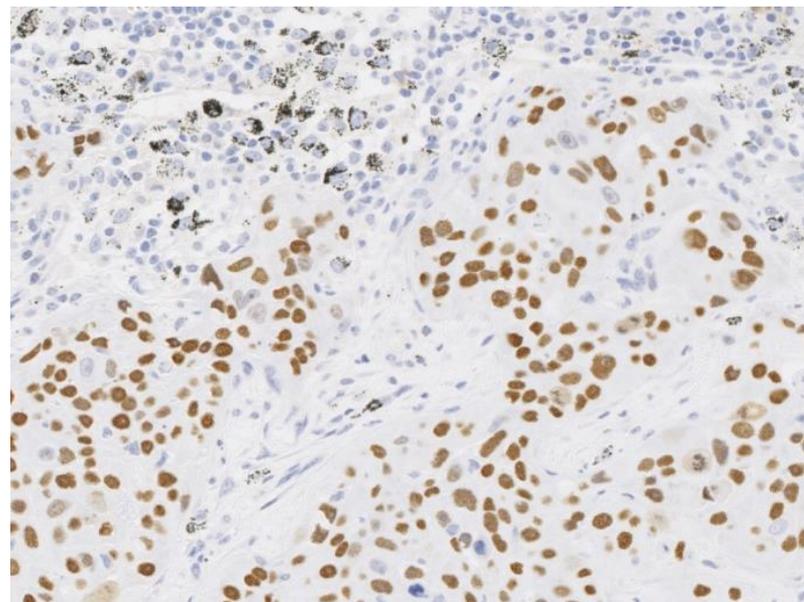
組織② 対物×20倍



評価 4.8



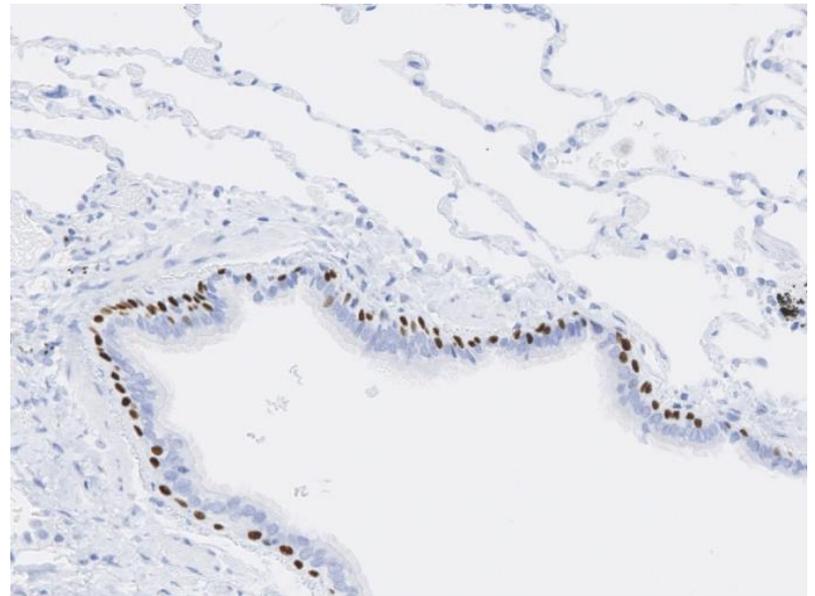
評価 3.2



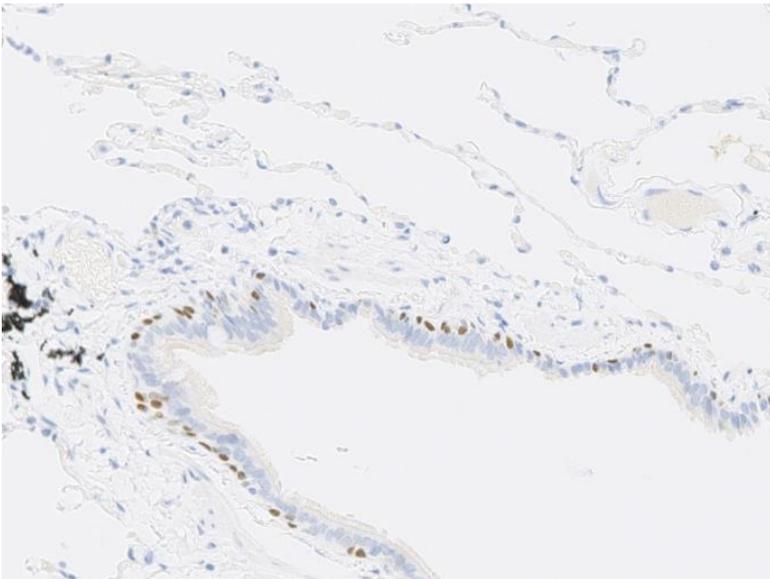
評価 3.8

p40染色 評価平均別

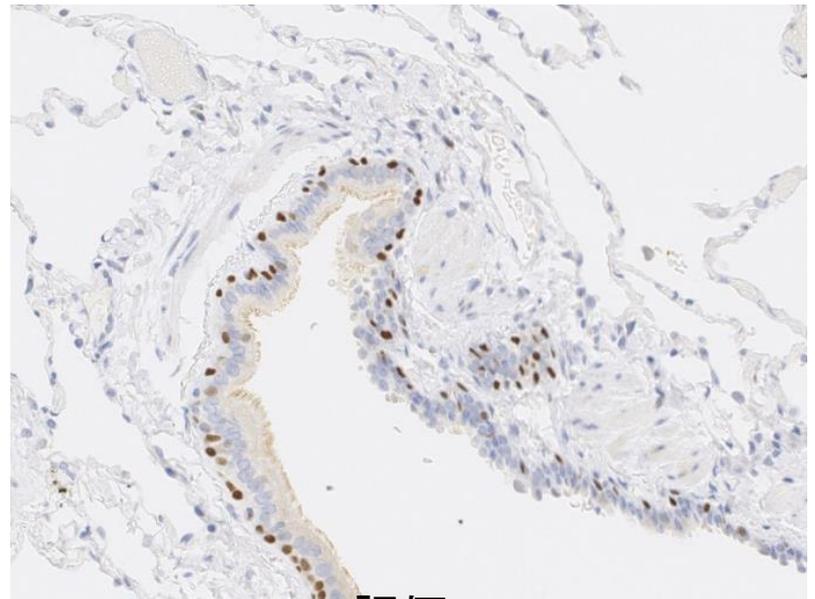
組織③ 対物×20倍



評価 4.8



評価 3.2



評価 3.8

p40染色 まとめ

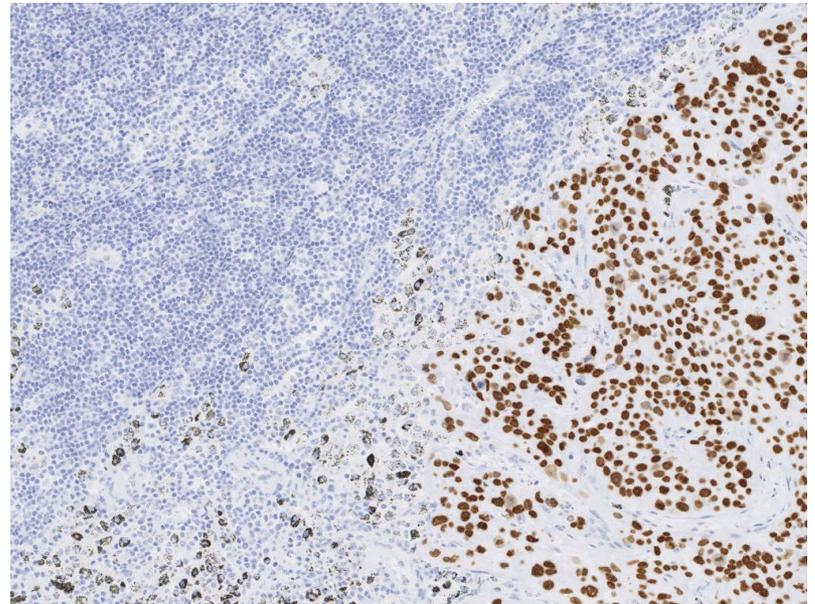
- 評価3.5以上の施設が86%を占め、比較的良
好な結果が得られた
- 背景への非特異反応が指摘される施設が多
かった

低評価原因 考察

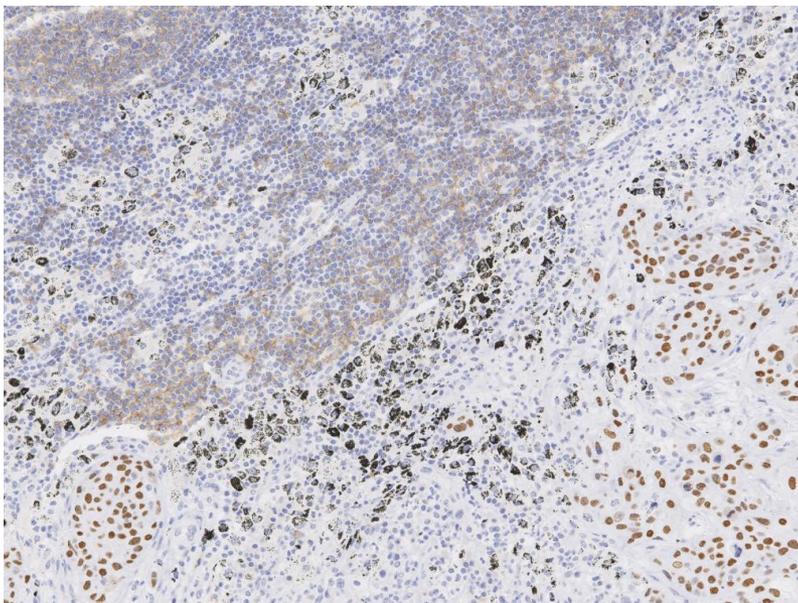
- 2施設ともフルオート機器と希釈済抗体を用いており、ほぼ同じ条件で染色を行い、高評価を得ている施設も存在した
⇒染色条件には問題は認められず、
使用試薬（調整不良や劣化など）が影響か
- ヘマトキシリンでの後染色が弱く、コントラストが悪い

p40染色 背景非特異

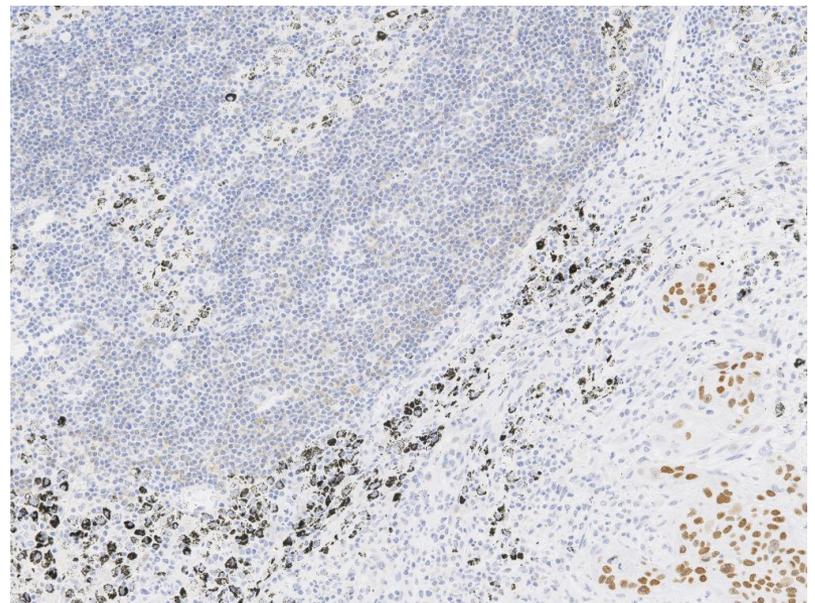
組織③ 対物×20倍



評価 4.8



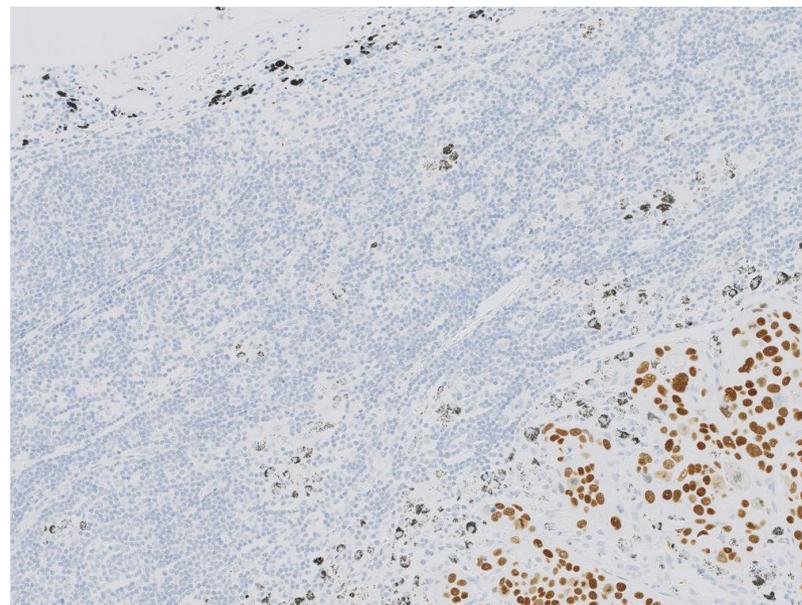
評価 3.7



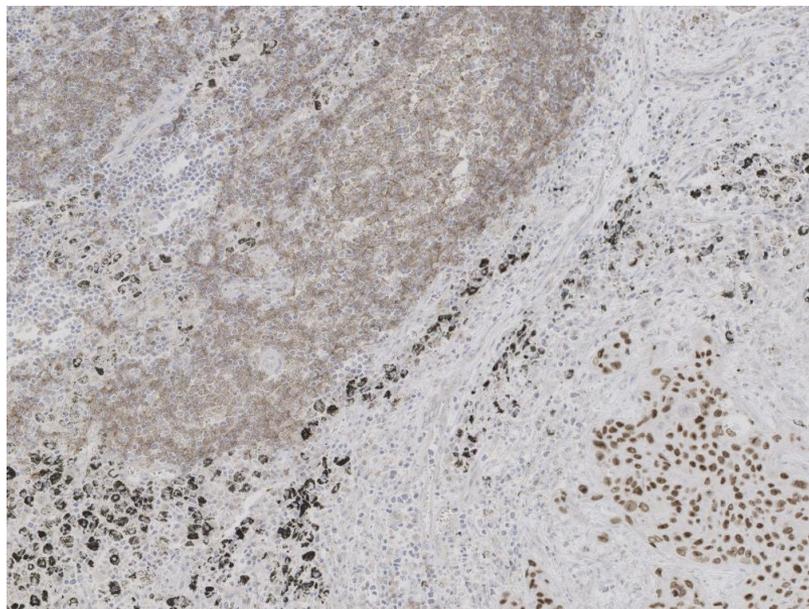
評価 3.8

p40染色 monoclonal polyclonal

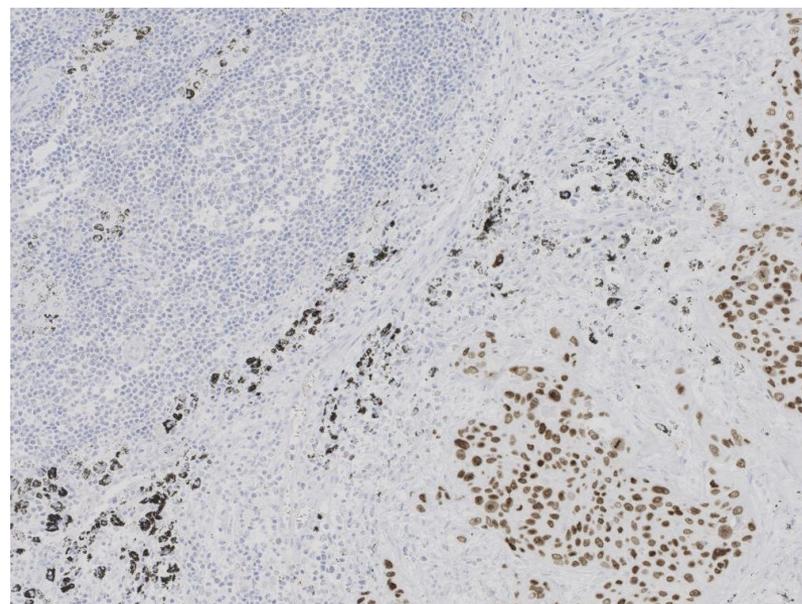
組織② 対物 × 10倍



Roche clone:BC28,RTU ,CC1,OptiView



ニチレイ Poly ,RTU, pH9 A/C



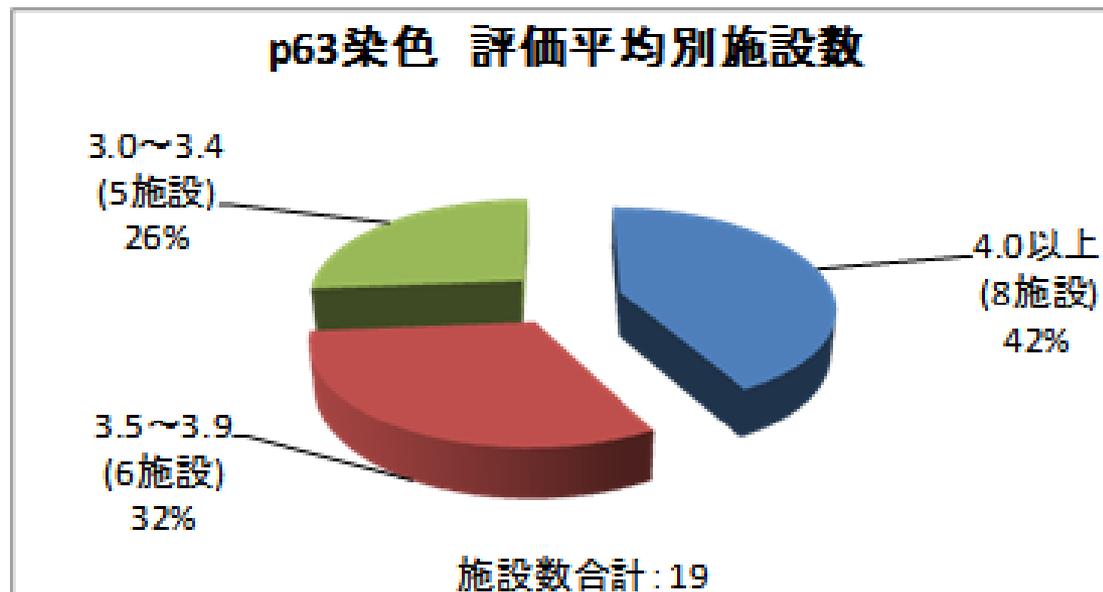
ニチレイ clone:BC28,RTU, pH9 A/C

調査回答結果からの集計
p63染色

p63染色 評価判定結果

マイナス評価判定別 施設数

評価	施設数 (%)
A評価	17 (89%)
B評価	2 (11%)
C評価	0 (0%)



p63染色 染色結果

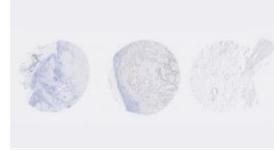
9220037



9220063



9220088



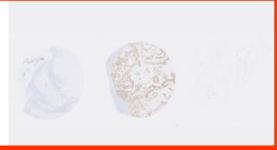
Roche①



9220017

未実施

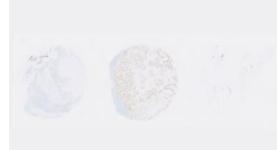
9220062



9720018



Roche②



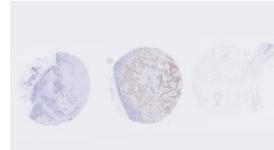
9220042



9220071



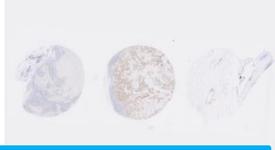
9220118



Leica①



9220047



9220078



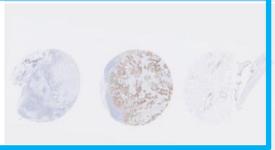
9220101

未実施

Leica②



9220306



9220253

未実施

9220100

未実施

DAKO



9220052



9220084



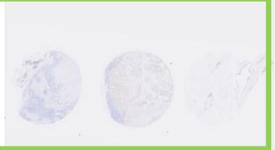
9220087



Nichirei



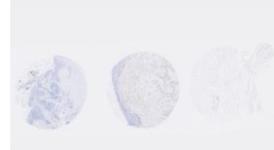
9220060



9220081



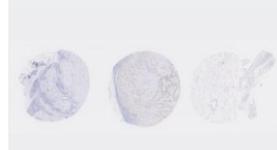
9220103



9220067

未実施

9220333

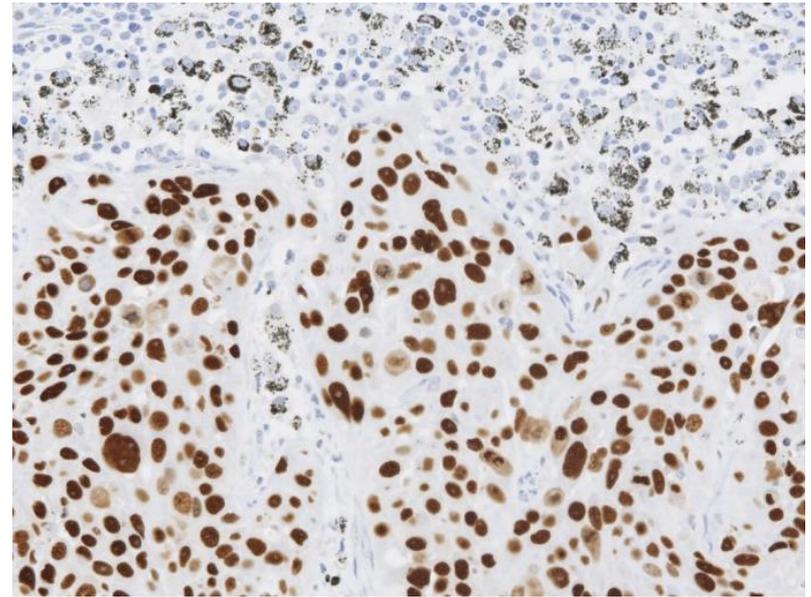


9220090

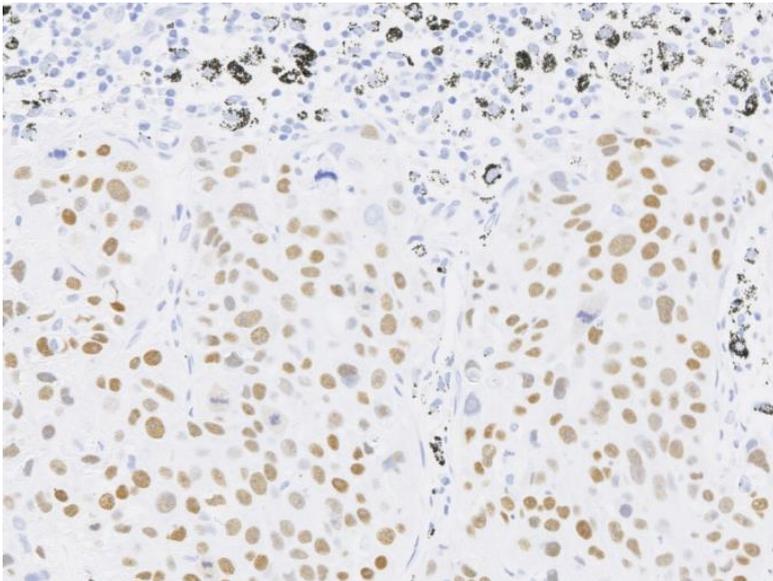


p63染色 評価平均別

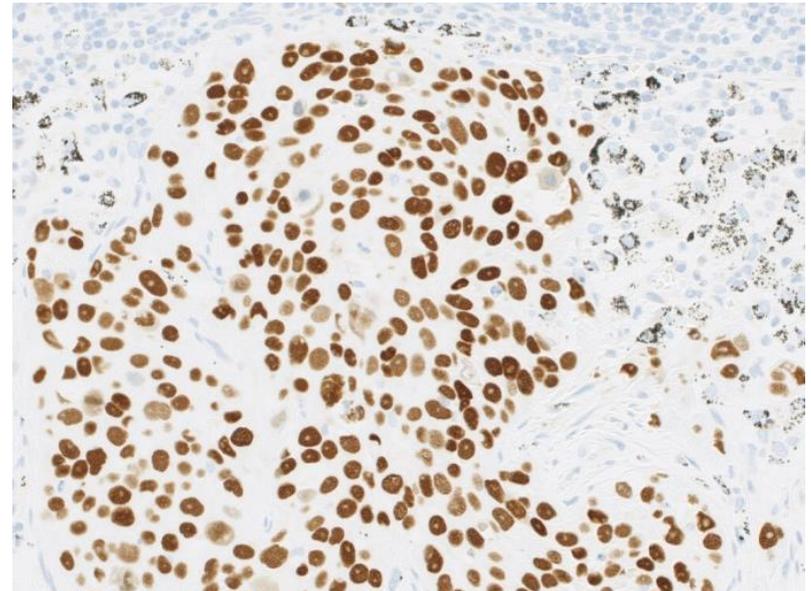
組織② 対物×4倍



評価 4.7



評価 3.0



評価 3.8

p63染色 まとめ

- 高評価～低評価まで各施設によりやや染色性の差が大きい結果となった

低評価原因 考察

- 2施設ともフルオート機器と希釈済抗体を用いており、ほぼ同じ条件で染色を行い、高評価を得ている施設も存在した

⇒染色条件には問題は認められず、

使用試薬（調整不良や劣化など）が影響か

- Clone : 4A4、希釈済抗体、低pH系賦活液での賦活処理（高pH系抗原賦活液による熱処理を実施している施設では高評価）
- 一次抗体反応時間とリンカー試薬の有無（一次抗体16分・リンカーなしと一次抗体32分・リンカーあり）の違い

p40,p63についての考察

施設番号	p40 組織②	p63 組織②	施設番号	p40 組織②	p63 組織②	施設番号	p40 組織②	p63 組織②
9220037			9220071			9220118		
9220306			9220078			9220087		
9220060			9220088			9220103		
9220063			9720018			9220090		
9220062								

まとめ

- 抗体と機器、反応系の組み合わせ
- 同一のフルオート機器と希釈済抗体を使用した施設間での高評価と低評価の評価差が認められた



試薬類の保管や管理の徹底
プレアナリシスの管理（固定時間 等）

- メーカー推奨の染色条件からの逸脱