



# 平成28年度 静岡県臨床検査精度管理調査

## 病理検査部門

平成28年11月23日

静岡県男女共同参画センター

「あざれあ」

# 参加施設 25施設

国際医療福祉大学熱海病院	市立島田市民病院
順天堂大学医学部付属静岡病院	藤枝市立総合病院
沼津市立病院	静岡徳州会病院
富士市立中央病院	株式会社 パソネット
富士宮市立病院	浜松医療センター
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	浜松医科大学医学部付属病院
静岡市立静岡病院	浜松赤十字病院
静岡赤十字病院	浜松労災病院
静岡県立総合病院	聖隷三方原病院
静岡県立こども病院	磐田市立総合病院
静岡済生会総合病院	中東遠総合医療センター
焼津市立総合病院	

# 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	ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社

# 調査内容

## ➤ 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（脱脂・脱灰・包埋）の実態調査」
- ✓ 「病理精度管理調査不参加施設における病理検体取扱いの実態調査」

# 対象抗体

- ▶ **Cytokeratin 7, Cytokeratin 20**  
原発不明癌における原発巣推定に利用
- ▶ **Cytokeratin AE1/AE3**  
汎用性の高い上皮マーカー

## -抗体保有率-

	○	×	保有率
CK7	24	1	96%
CK20	23	2	92%
AE1/AE3	24	1	96%

# 調査配布試料

- 組織1 膀胱尿路上皮癌
- 組織2 肺腺癌
- 組織3 直腸腺癌
- 組織4 喉頭扁平上皮癌

※全てリンパ節転移組織

ティッシュマイクロアレイブロックを作製し、 $3\mu\text{m}$ 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

# 各組織染色態度

メーカーサーベイより染色性を確認

	CK7	CK20	AE1/AE3
組織1 膀胱尿路上皮癌	(+)	(+)	(+)
組織2 肺腺癌	(+)	(-)	(+)
組織3 直腸腺癌	(-)	(+)	(+)
組織4 喉頭扁平上皮癌	(-)	(-)	(+)

# 評価判定方法

## ① 染色性評価

病理医8名による5段階評価

(1：診断不適正、2：評価困難、3：要努力、4：普通、5：良好)

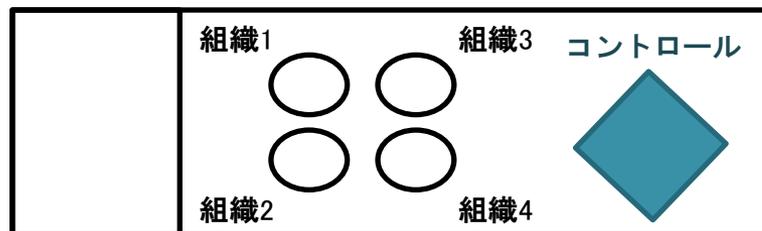
## ② マイナス評価

「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、診断に影響しない程度に有：1、強い非特異反応：0)と合計6ポイントを3段階評価 (A：5～6、B：3～4、C：2以下) ※組織2は合計4ポイントを評価

# コントロール切片貼付

<実施のねらい>

染色性の自己評価を行う際に、通常通りの染色性が得られているかの確認材料とする。



**内部精度管理として染色性を保証**

# コントロール切片実施率

## ➤ CK7

**92%実施** (22/24施設)  
(肺、肺癌、乳癌、皮膚など)

## ➤ CK20

**91%実施** (21/23施設)  
(大腸、大腸癌、膀胱、虫垂など)

## ➤ AE1/AE3

**92%実施** (22/24施設)  
(大腸、肺、扁桃、皮膚など)

# 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評価

---

#### 染色結果の判定方法

##### 1. 核染色とのコントラスト

(通常より良好：1、通常と同様：2、通常より悪い：3)

##### 2. DAB発色

(通常より良好：1、通常と同様：2、通常より悪い：3)

##### 3. 今回の染色結果の自己評価

(通常より良好：1、通常と同様：2、通常より悪い：3)

---

# 自己評価と調査評価の乖離

3抗体の調査にて低評価（3.4以下）となった7施設のすべてが自己評価「通常と同様」と判定

診断は可能だとしても、

- コントロール切片による染色性の確認
- 病理医とのコンセンサス

この2点は必要



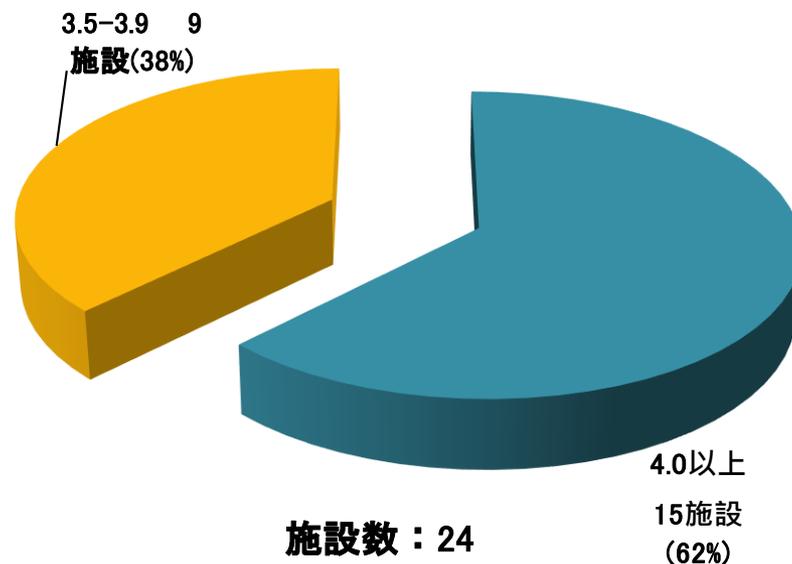
# CK7染色

# CK7染色 評価判定結果

## マイナス評価

評価	施設数	(%)
A評価	20	83
B評価	4	17
C評価	0	0

## 病理医評価

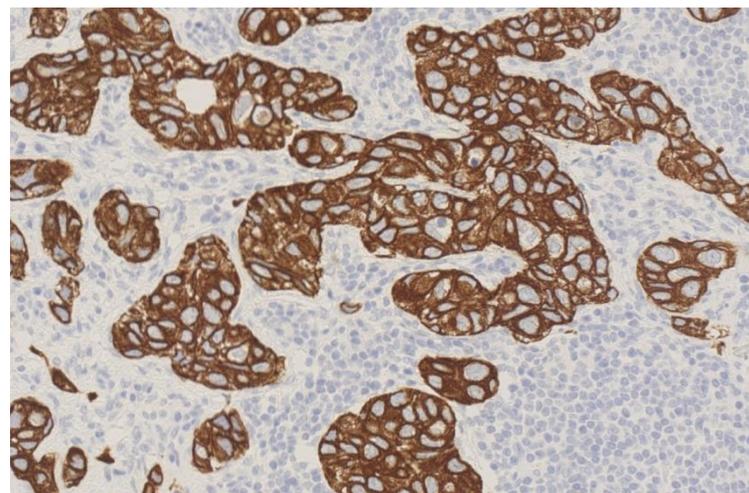
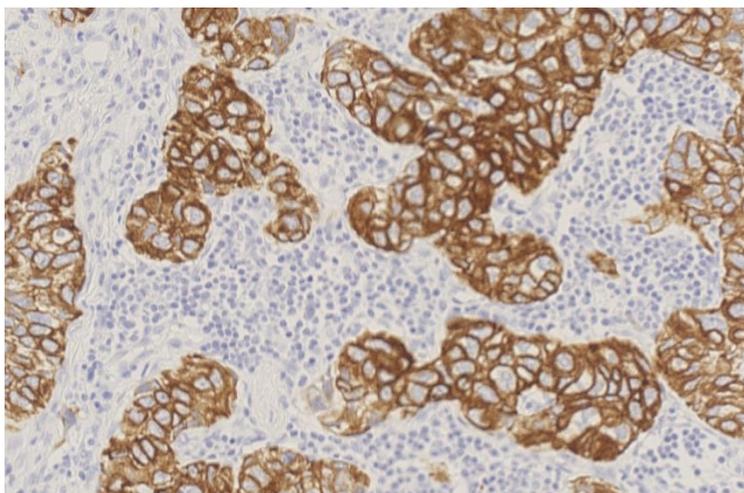
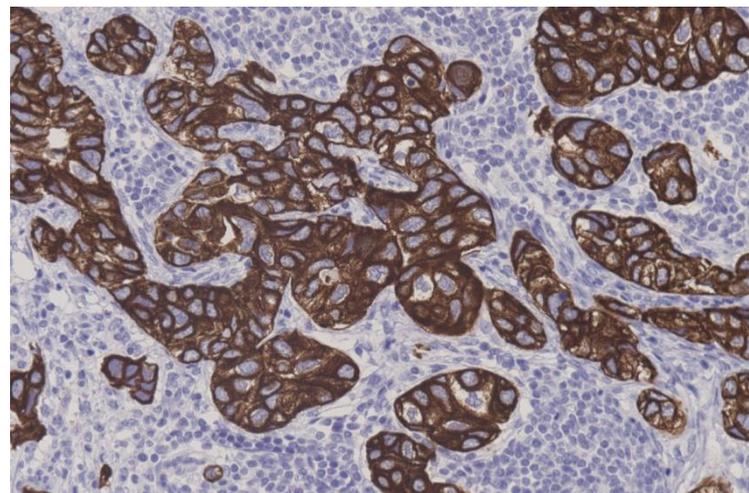


**CK7**  
**組織1**  
(対物×20)

**評価 5.0**

**評価 3.5**

**評価 4.3**

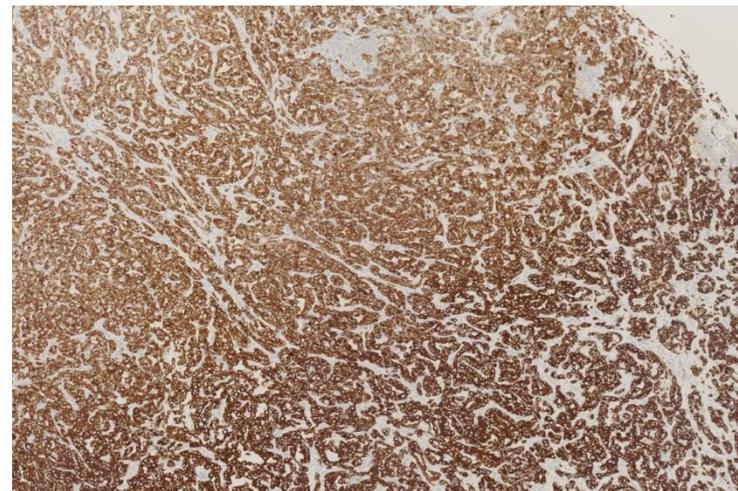
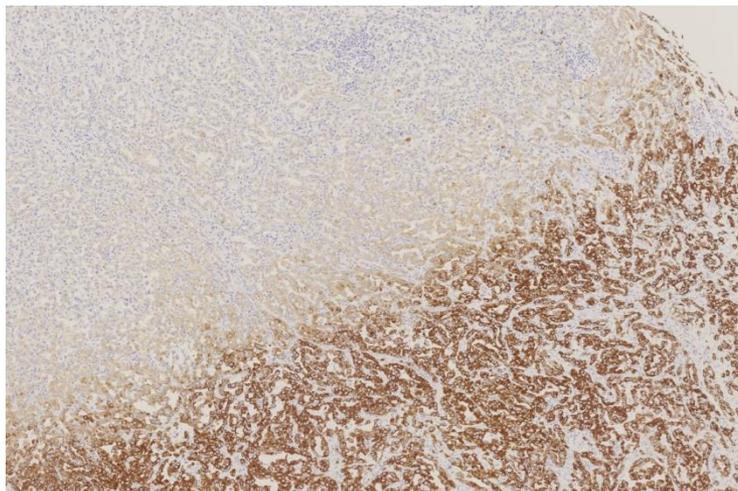
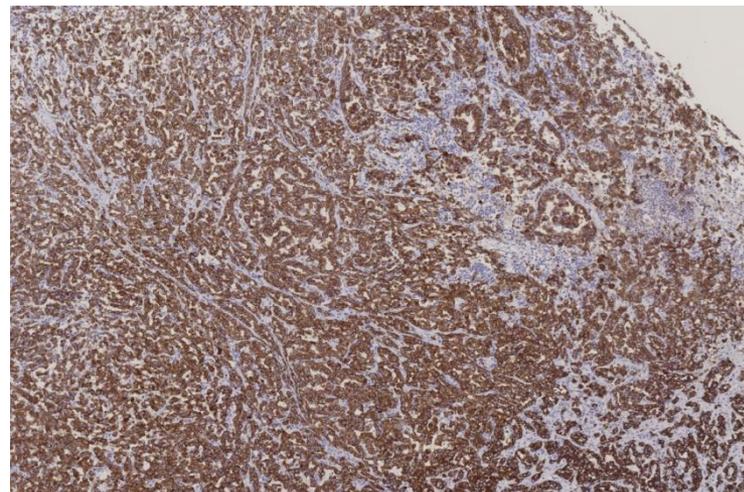


CK7  
**組織2**  
(対物×5)

評価 5.0

評価 3.5

評価 4.3



# CK7染色 まとめ

- ▶ 全24施設が評価3.5以上となり、比較的良好な結果が得られた
- ▶ 病理医補足項目において「陽性部位の反応ムラあり」との指摘が全施設にあり



調査試料（組織2）に由来すると考えられる

# 低評価考察①

## Cloneによる違い

Clone	動物種	評価平均	施設数
Mouse	OV-TL12/30	4.1	18(74%)
Rabbit	SP52	4.6	3(13%)
Mouse	RN7	3.8	3(13%)

RN7(Leica)の3施設ではメーカー推奨賦活化条件「熱処理 pH9.0 20分」より逸脱あり



**賦活化条件の再検討**により改善が見込める

# 低評価考察②

## 染色ムラ

- 染色ムラは固定不良などの組織由来が示唆されるが、**評価に差がみられた**
- 高評価施設、低評価施設ともにプロトコルにおける傾向はみられない
- 高評価施設は染色ムラがほとんどみられず、陽性部位の染色強度が高い



**背景/非特異反応を抑えつつ、染色強度を高くすることにより改善が見込まれる**



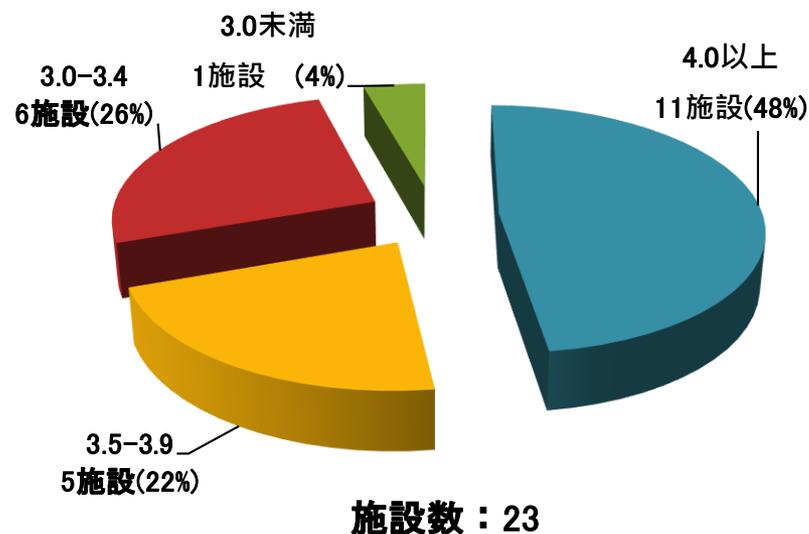
# CK20染色

# CK20染色 評価判定結果

## マイナス評価

評価	施設数	(%)
A評価	23	100
B評価	0	0
C評価	0	0

## 病理医評価

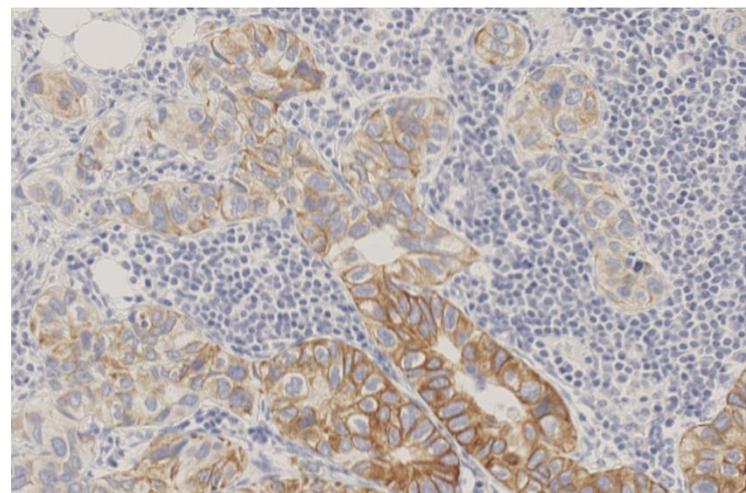
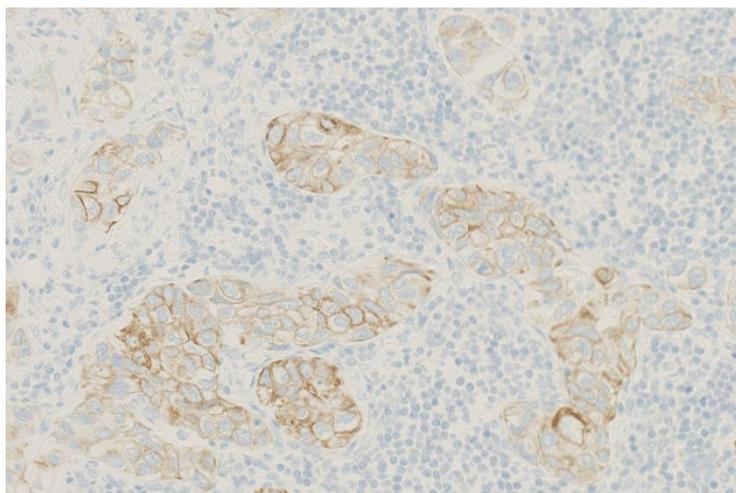
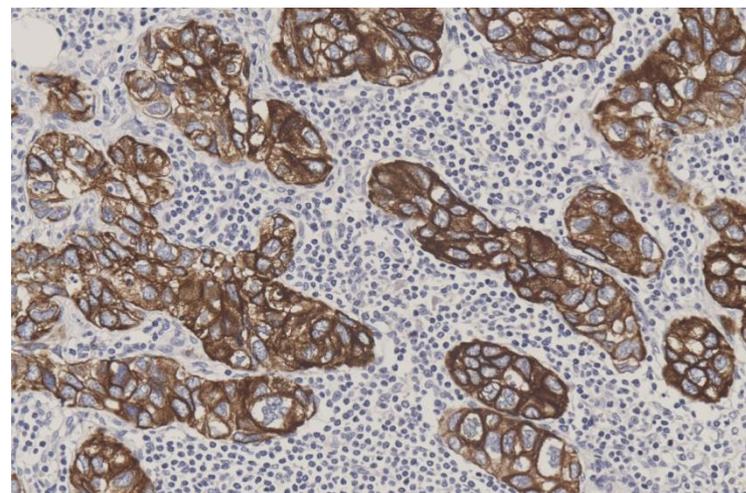


CK20  
**組織1**  
(対物×20)

評価 4.3

評価 3.1

評価 3.6



**CK20**

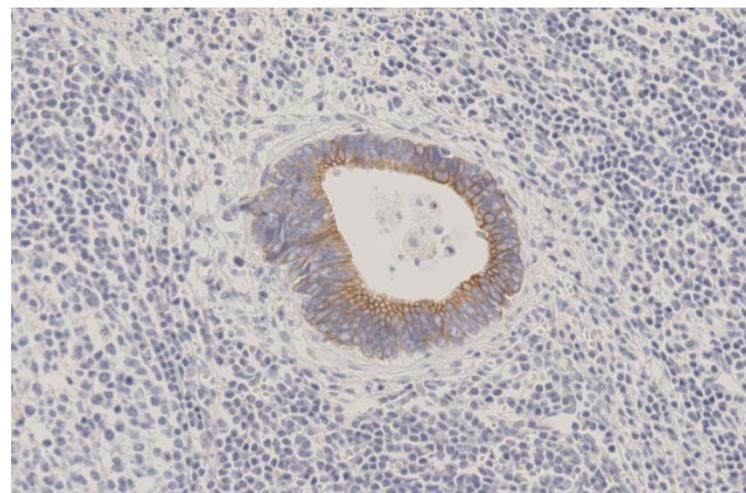
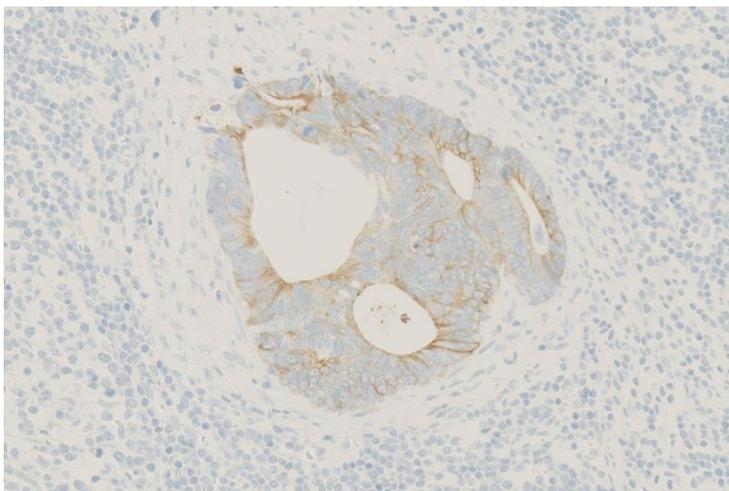
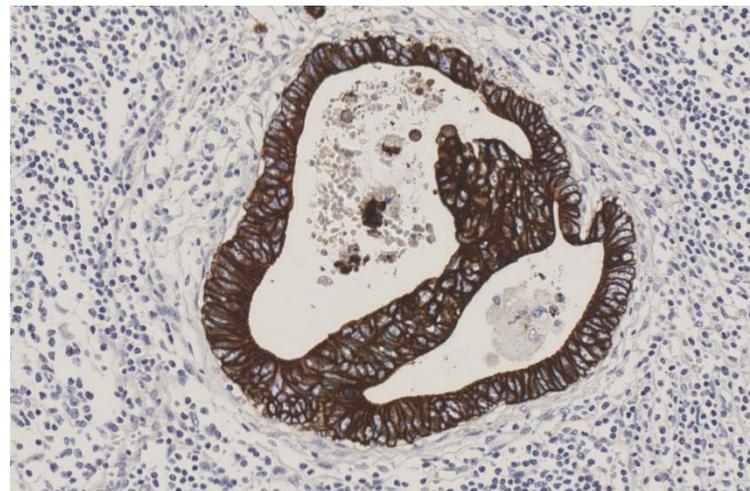
**組織3**

(対物×20)

**評価 4.3**

**評価 3.1**

**評価 3.8**



# CK20染色 まとめ

- 高評価から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

# 低評価考察①

## 評価3.6以下11施設

- ◆8施設が「Roche、熱処理、CC1(pH8.5)」と共通の賦活化条件。この賦活化条件を用いている施設はこの8施設以外なし。Cloneも様々であり、各抗体メーカー推奨プロトコルは「熱処理、高pH」である。

⇒ CC1(pH8.5)との相性が原因？

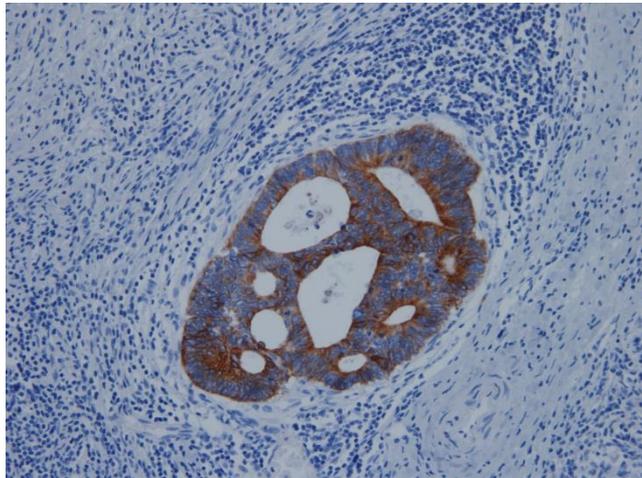
- ◆3施設は同一Cloneである以外は傾向なく、ほぼ同様の染色条件でも高評価施設あり

⇒ 試薬や抗体の影響か

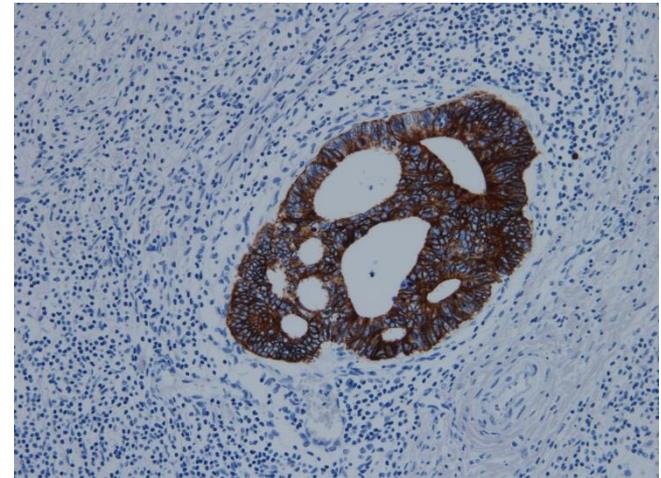
# 低評価考察②

## CC1(pH8.5)の影響

「Roche、酵素処理」が2施設あり、ともに  
高評価 → 酵素処理の方がよい？



CC1(pH8.5)



酵素処理

※賦活化以外はすべて同一条件で再染色



# AE1/AE3染色

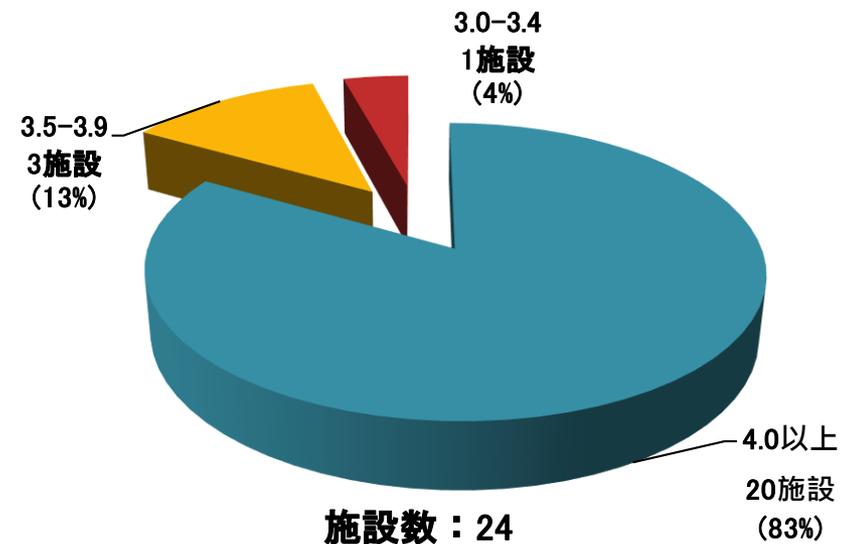
# AE1/AE3染色

# 評価判定結果

## マイナス評価

評価	施設数	(%)
A評価	23	96
B評価	1	4
C評価	0	0

## 病理医評価



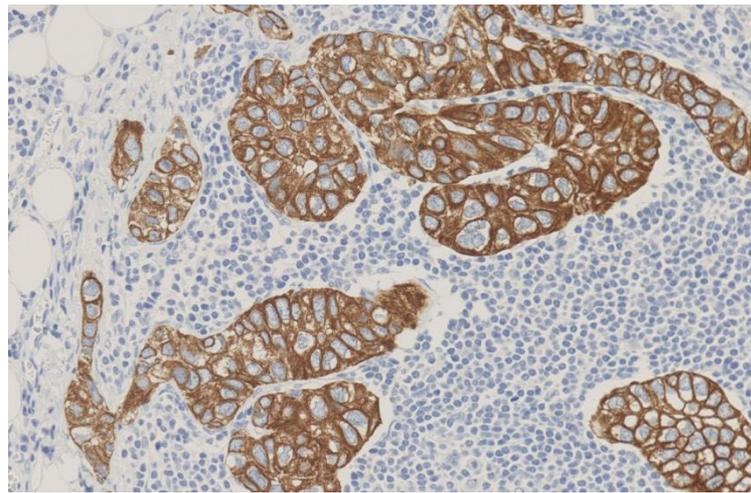
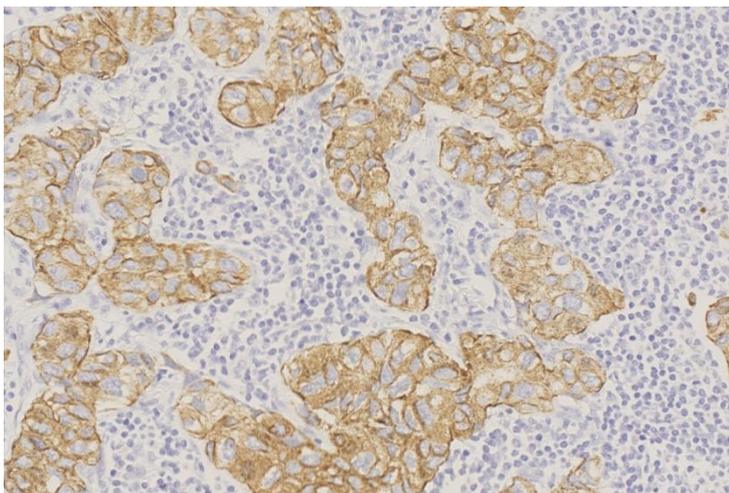
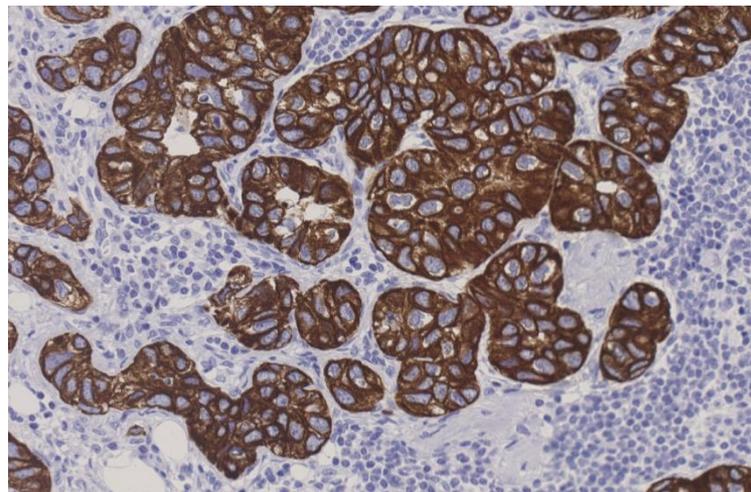
AE1/AE3

**組織1**  
(対物×20)

評価 5.0

評価 3.1

評価 4.0



AE1/AE3

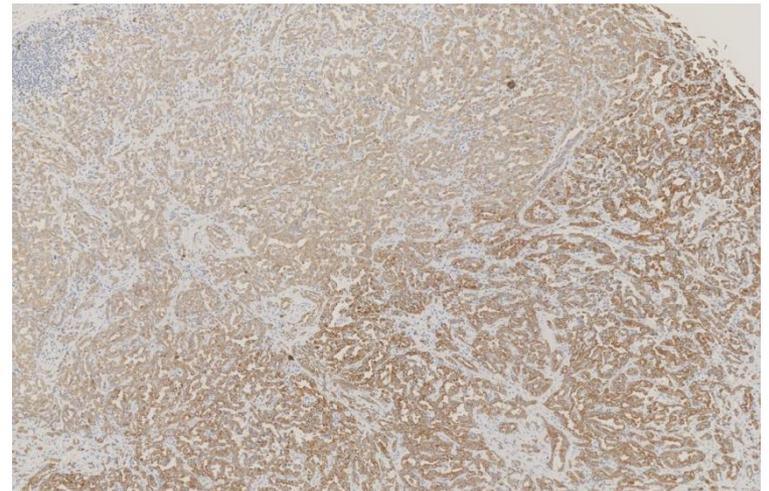
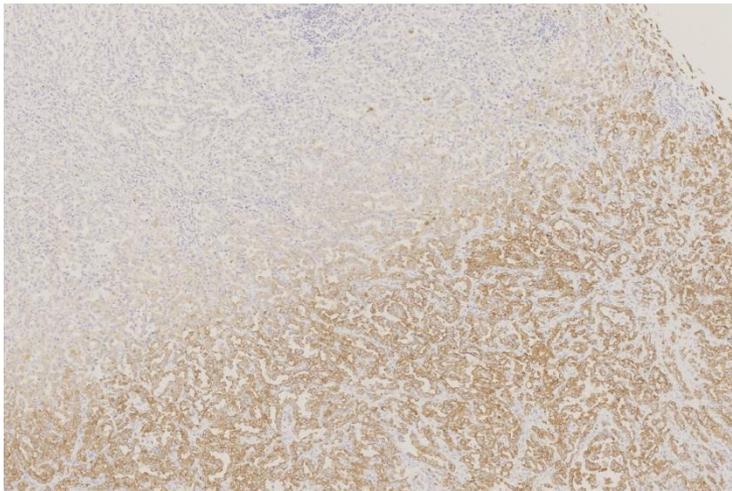
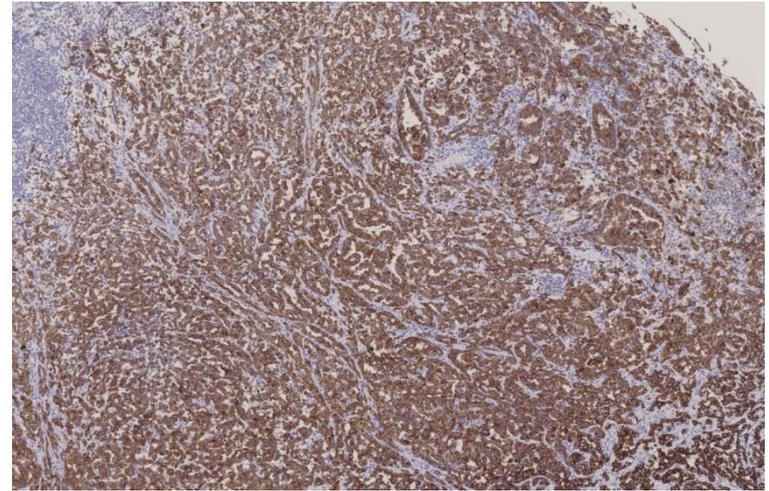
**組織2**

(対物×5)

評価 5.0

評価 3.1

評価 4.0



# AE1/AE3染色 まとめ

- 評価3.5以上の施設が96%となり、良好な結果が得られた
- CK7と同様に、病理医補足項目において「陽性部位の反応ムラあり」との指摘がほぼ全施設にあり



調査試料（組織2）に由来すると考えられる

# 低評価考察

- ▶ 低評価施設ではフルオート機器と希釈済抗体を用い、ほぼ同様の染色条件でも高評価を得ている施設あり
  - ➡ 試薬や抗体の影響か
- ▶ CK7同様、組織由来の染色ムラが全体的にみられたが、プロトコルの傾向はなく、陽性部位の染色強度が高い施設に高評価が多い
  - ➡ 染色強度を高くする

# 精度管理調査まとめ

## ▶ 原則として

1. メーカー推奨条件の順守
2. 試薬や抗体の管理を徹底
3. プレアナリシスの管理

それでも、染色性が改善されない・・・



賦活化条件、染色強度、Cloneなどを推奨条件に拘らず、変更してみる



**本調査を今後の日常業務や精度管理に  
役立てていただければ幸いです。**