

令和元年度 静岡県臨床検査精度管理調査

病理検査部門

令和元年12月8日
静岡県男女共同参画センター
「あざれあ」

調査内容

- Ki67,p53,Vimentin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
「プレアナリシス段階の管理」
「病理検査での緊急報告」
「内部精度管理の状況」

配布試料

- 10%中性緩衝ホルマリン固定液にて48時間程度固定した下記組織を使用
- 薄切切片の作製は、全自動連続薄切装置（ティシュー・テック スマートセクション）にて4 μm 薄切切片を作製・配布

配布試料 No.51

組織アレイ配置と使用組織

No.51	① ② ③ ④
--------------	---

- ① 大腸癌
- ② 大腸癌
- ③ 大腸組織（非腫瘍）
- ④ 肝組織（非腫瘍）

評価判定方法

①染色性評価

染色性評価を7名の病理医に4段階評価として評価して頂き、その平均値を評価点とする

(1:診断不適正標本、2:要努力、3:良好、4:最適)

評価結果の判断として、「評価3.0」以上の結果が得ることが望まれる。

※評価点の減点理由を下記の6項目から該当する場合に標して頂いた。

- ・偽陽性反応あり
- ・陽性反応強度が弱い/不十分/偽陰性
- ・陽性部位の反応ムラあり
- ・非特異反応(背景染色)あり
- ・核染色が薄い/不適切
- ・組織の剥離・汚れあり

病理医評価について

評価4：十分な染色性の標本



評価3：改善の余地があるが、診断に支障はない標本

(診断に支障なし)



(診断に支障あり)

評価2：診断に苦慮する（判断に迷う）染色性の標本



評価1：診断不能な標本

病理医評価について

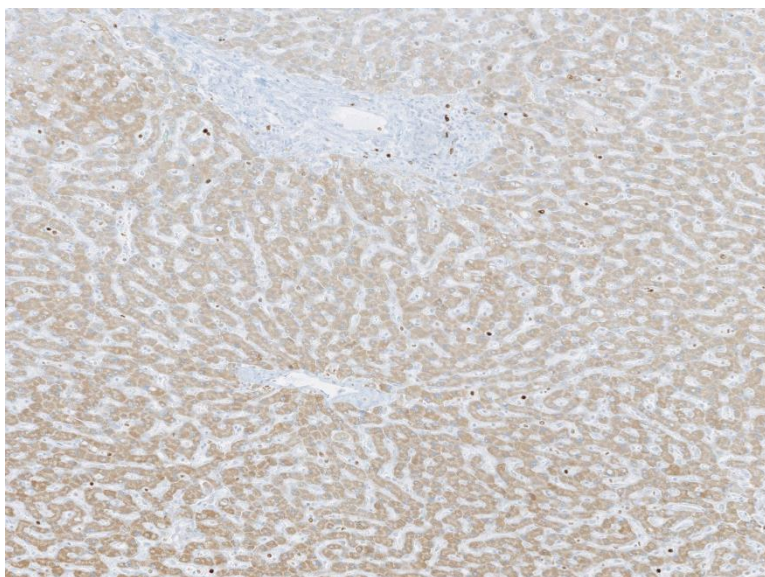
評価	判定	評価基準
4	最適	十分な染色性の標本 ・染色強度や陽性細胞率が十分である(正常組織、腫瘍細胞) ・非特異反応(背景染色、内因性ビオチン)は無または軽度であり、診断に支障はない ・総じて診断に十分な染色性である
3	良好	改善の余地があるが、診断に支障はない標本 ・一部の組織コアにおいて染色性が弱く、陽性率の低い組織が含まれている ・非特異反応(背景染色)が目立つが、診断に支障はない ・診断には問題ない染色性であるが、プロトコルの改善の余地あり ・陽性反応強度に問題ないが、核染色(ヘマトキシリン)が弱い/不十分 ・④肝組織で内因性ビオチンによる強い非特異反応を認めるが、診断に支障はない
2	要努力	診断に苦慮する(判断に迷う)染色性の標本 ・組織コアの一つにおいて偽陰性または偽陽性を認める ・全体として陽性反応が弱い(強拡大で辛うじて陽性判定ができる) ・全体として非特異反応(背景染色)を認める(陽性所見と背景染色のコントラストが悪いが、陽性所見は辛うじて判別できる)
1	診断不適正標本	診断不能な標本 ・複数の組織コアが偽陰性、または顕著な偽陽性反応を認める ・強い非特異反応(背景染色)により陽性所見の判別ができない ・診断不可であり、早急な改善が必要である

病理医評価 補足①

今回の調査では、以下の非特異反応が単独で認められた場合は「評価3」以上の判断とした。

I. 肝組織における内因性ビオチンによる非特異反応（LSAB法の使用）

例) Ki67染色



病理医評価 補足②

今回の調査では、以下の非特異反応が単独で認められた場合は「評価3」以上の判断とした。

ii 大腸固有筋層における非特異反応

大腸固有筋層への非特異反応が一部の染色で認められた。この非特異反応は調査アンケートの集計や染色プロトコルからの原因特定が困難であり、この反応のみの場合は「評価3」以上の扱いとした。

病理医評価 補足②

今回の調査では、以下の非特異反応が単独で認められた場合は「評価3」以上の判断とした。

ii 大腸固有筋層における非特異反応

例) Ki67染色



評価判定方法

②マイナス評価（精度管理委員による評価）

「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」

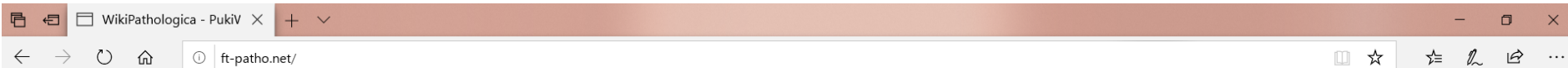
について以下の基準で評価し合計6ポイントを
3段階評価（A：5～6、B：3～4、C：2以下）とした。

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

バーチャルスライドによるWeb公開



WikiPathologica

<http://ft-patho.net/index.php?WikiPathologica>

[トップ] [編集 | 凍結 | 差分 | バックアップ | 添付 | リロード] [新規 | 一覧 | 単語検索 | 最終更新 | ヘルプ]

Wikipathologica目次

- [トップページ](#)
- [静岡病理学会SPS](#)
- [静岡病理学会のお知らせ](#)
- [症例報告](#)
- [Lag time consultation-Iwata City Hospital\(閲覧制限があります\)](#)
- [病理アトラス](#)
- [血液腫瘍病理学](#)
- [病院症例データベース](#)
- [お勉強の報告](#)
- [CPC症例報告](#)
- [ヴァーチャルスライド](#)
- [浜松医大病理講義ノート](#)
- [管理人プロフィール](#)
- [病理でトボトボLinux](#)
- [磐田市立総合病院病理診断科 Division of Pathology Iwata City Hospital](#)

腫瘍病理スタッフ

- [Shizuoka Survey 2019](#)

- [中部圏 Survey 2019](#)

Counter: 1001367, today: 92, yesterday: 0

ホームページの更新

wikipathologicaをつくってみました。†

病理のwikiです。病理関係者, 病理に興味のある方がたのご参加を歓迎いたします。

2019年。元号は平成から令和に変わりました。wikipathologicaは12年目になります。サーバHDクラッシュなどの理由で、ときどき停止するかもしれませんが気長におつきあい下さい。

ページの左下、**最新の60件**で更新されたページがわかります。内容閲覧にはタイトルの文字をクリックするとリンクできます。

wikiでは文字列にリンクが埋め込まれています。文字の上でリンクのカーソルに変わる部分は関連ページへのリンクです。

書き込みができるページにしてありましたが最近不適切な書き込みが増加したため書き込み可能を制限しています。ご了承下さい。

すべてが英文のページはスパム、悪意の書き込みなのでご注意ください。クリックによる損害には管理者は対応できません。

最近不愉快なリンクの書き込みが増えていきます。決してよくわからないリンクをクリックしないようにしてください。ページタイトルに「+」が入っているページやアルファベットのみのページは、ほぼ確実に不適切リンクの書き込みです。ご注意ください。

右の磐田市キャラクターはシッペイくんといいます。霊犬悉平太郎（しっぺいたろう）をモチーフに磐田市のマスコットとして活躍中です。



©磐田市

WHAT'S NEW †

wikiのページでは**文字列**をクリックすると関連ページにとんで閲覧することができます。アクティブな文字列は茶色や青色になっています。

NEW

令和元年度 免疫染色 調査項目

1. Ki67
2. p53
3. Vimentin

Ki67染色での試料組織染色性

【Ki67染色性： 核】

①大腸癌組織	陽性	腫瘍細胞の多くに陽性
②大腸癌組織	陽性	腫瘍細胞の多くに陽性
③大腸組織 (非腫瘍)	陽性	陰窩上皮(下層の増殖帯)で陽性細胞を認める
④肝組織 (非腫瘍)	陽性	肝細胞での陽性細胞は1%未満

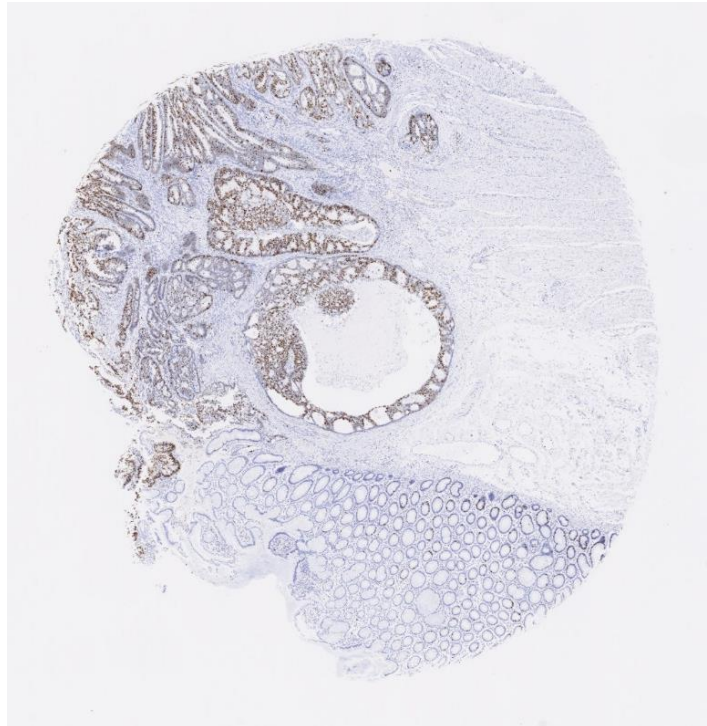
Ki67染色での試料組織染色性

【染色性： 核】

①大腸癌組織

陽性

腫瘍細胞の多くに陽性



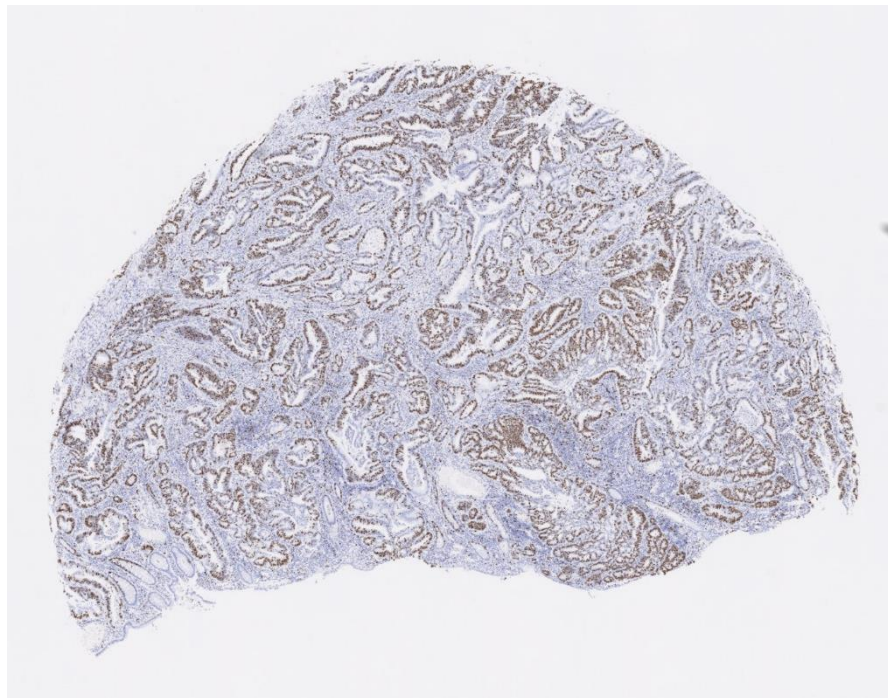
Ki67染色での試料組織染色性

【染色性： 核】

②大腸癌組織

陽性

腫瘍細胞の多くに陽性



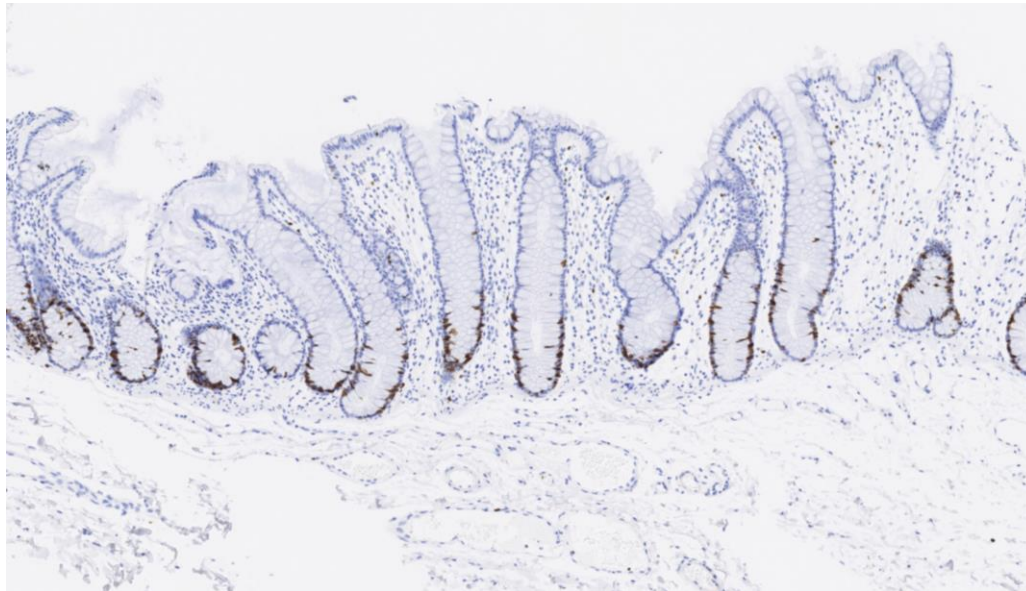
Ki67染色での試料組織染色性

【染色性： 核】

③大腸組織
(非腫瘍)

陽性

陰窩上皮(下層の増殖帯)で陽性細胞を認める



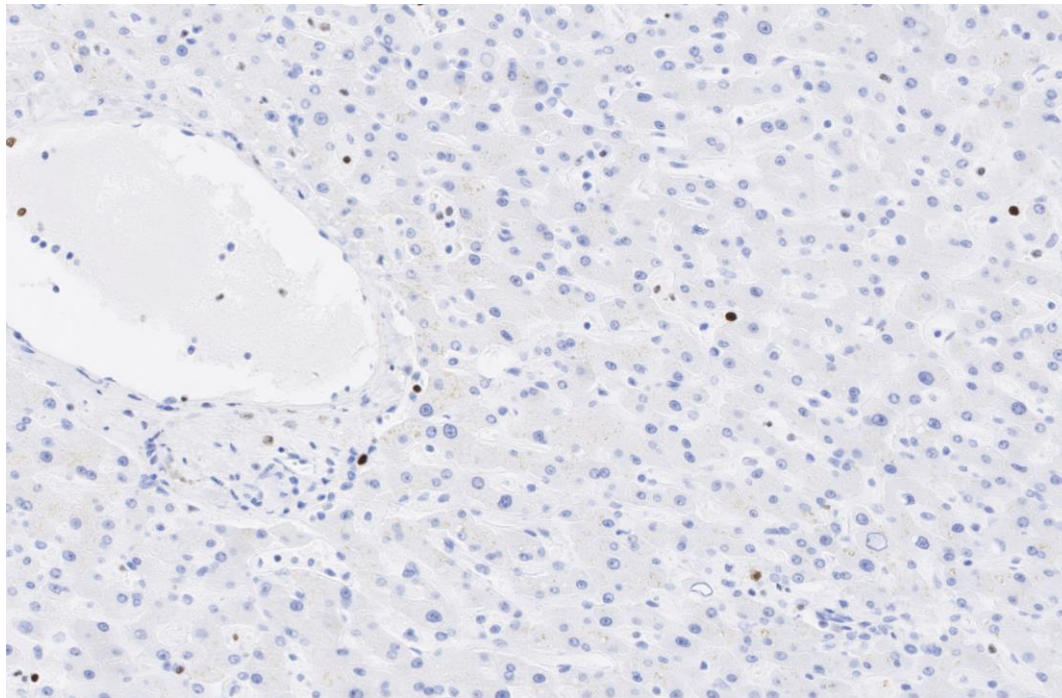
Ki67染色での試料組織染色性

【染色性： 核】

④肝組織
(非腫瘍)

陽性

肝細胞での陽性細胞は1%未満



Ki67染色 調査結果

Ki67染色 病理医評価

- 「診断不適正標本」の判断が1施設あり、早急な是正処置が必要である
- 低評価の主な原因として、陽性反応強度が弱い/不十分、非特異反応、不適切な後染色が挙げられる

Ki67染色 評価判定結果

Ki67染色 評価平均別施設数

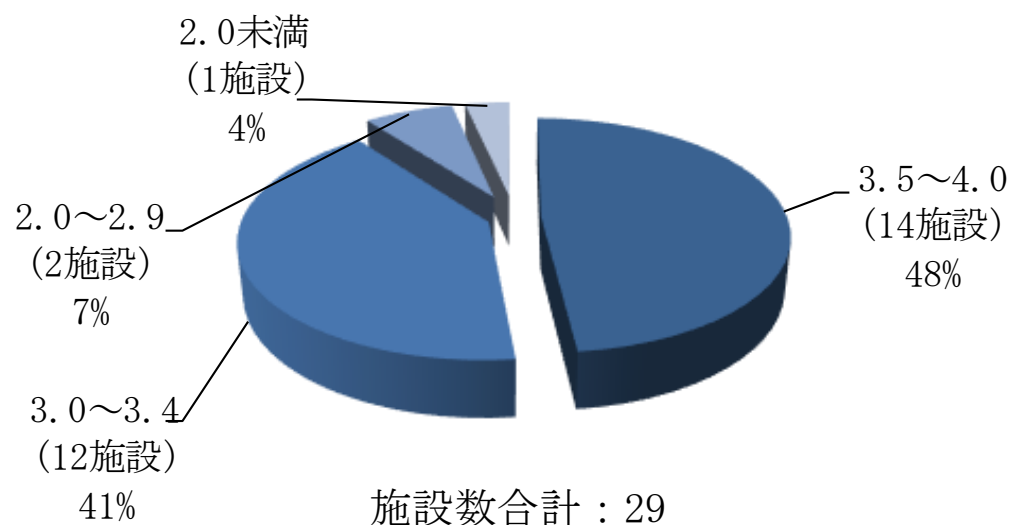


図6-7-1

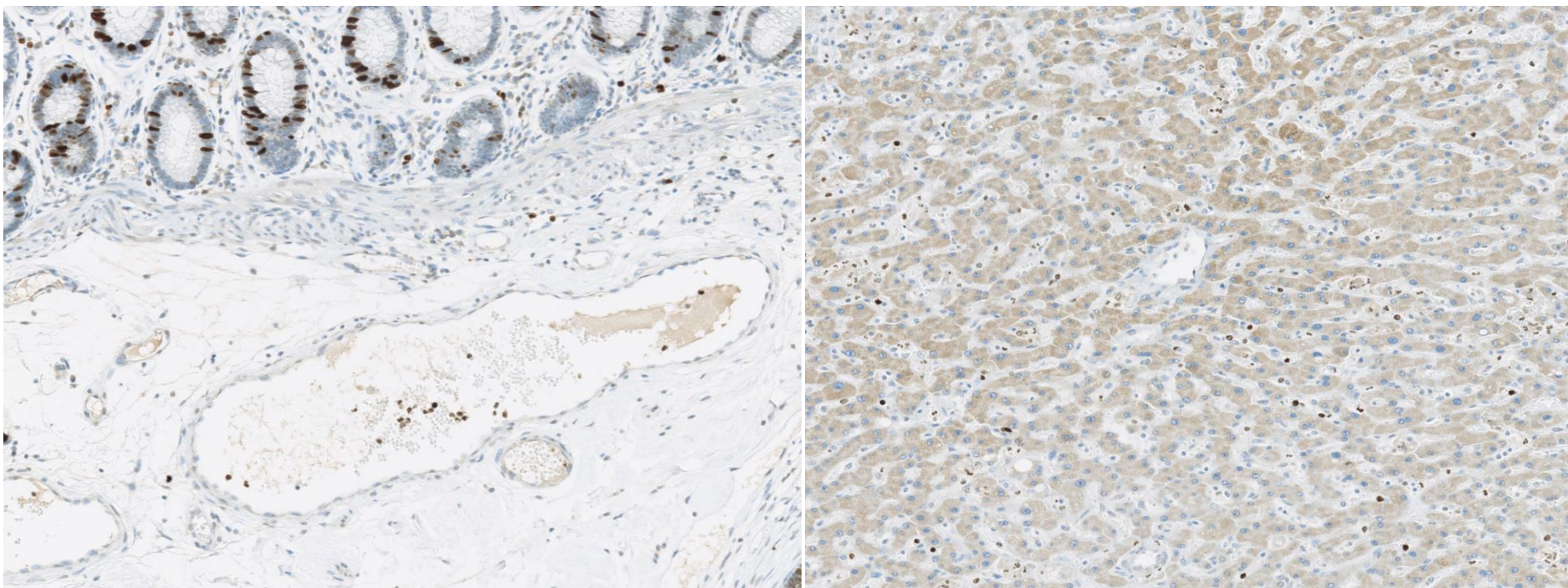
表6-7-2

Ki67
マイナス評価判定別施設数

評価	施設数	(%)
A評価	27	(93%)
B評価	2	(7%)
C評価	0	(0%)

Ki67染色 評価判定結果

マイナス評価 〈背景〉



※③大腸組織の平滑筋細胞への非特異反応については
「背景の非特異反応」の評価対象外とした

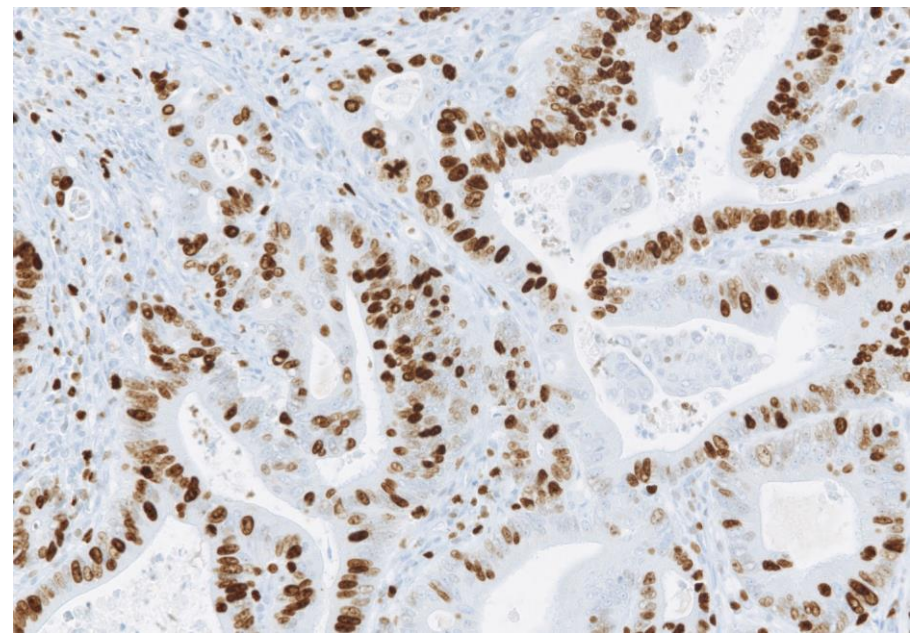
Ki67染色 低評価原因

評価点	評価減点事項(表記は指摘人数)					
	偽陽性反応あり	陽性反応強度が弱い/不十分/偽陰性	陽性部位の反応ムラあり	非特異反応(背景染色)あり	核染色が薄い/不適切	組織の剥離・汚れあり
2.9	0	0	0	5	1	0
2.9	1	0	0	5	0	0
1.1	0	7	0	2	0	0

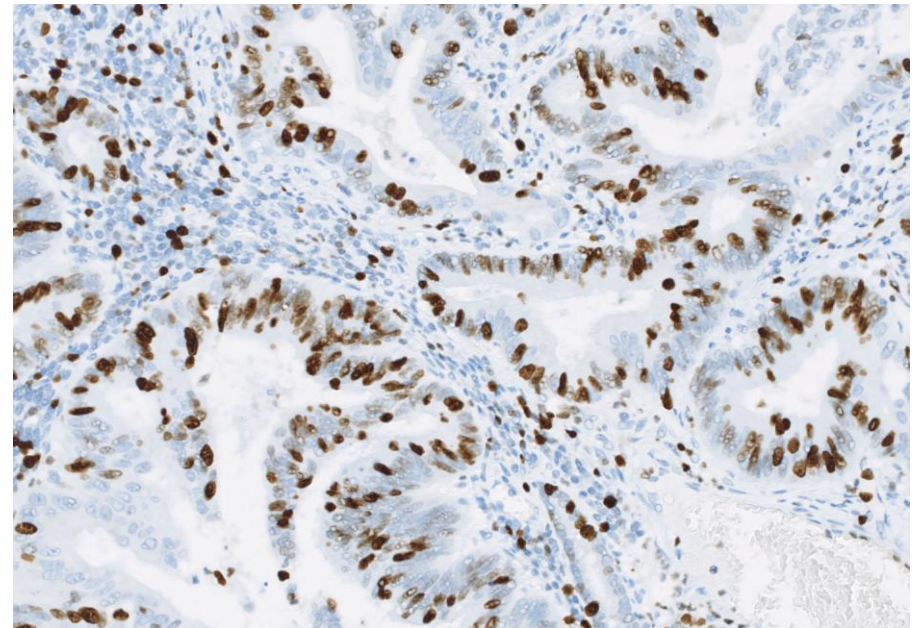
Ki67染色 核染不良

組織②大腸癌
対物×20倍

核以外への共染色が認められ、細胞核の認識性が低下しており、染色率判定への影響が示唆される



評価 2.9

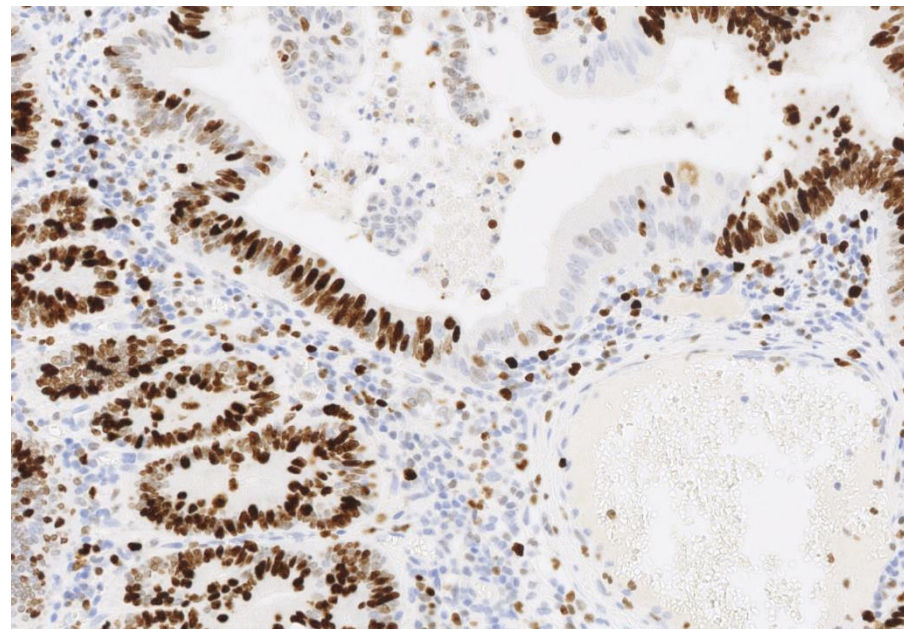


評価 4.0

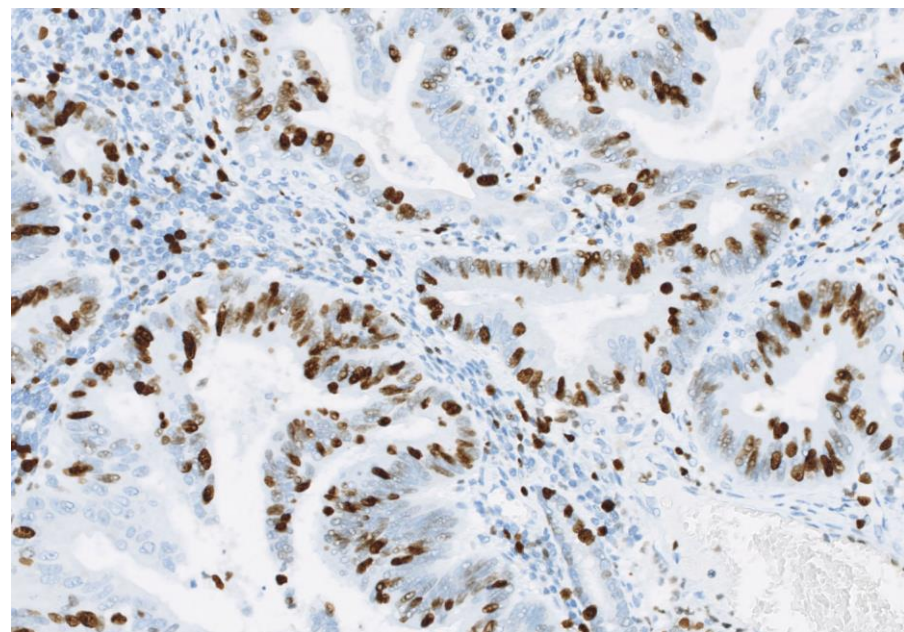
Ki67染色 過剰な 反応強度

組織②大腸癌
対物×20倍

軽度ではあるが組織全体へのDAB反応がみられ、反応強度が過剰



評価 2.9

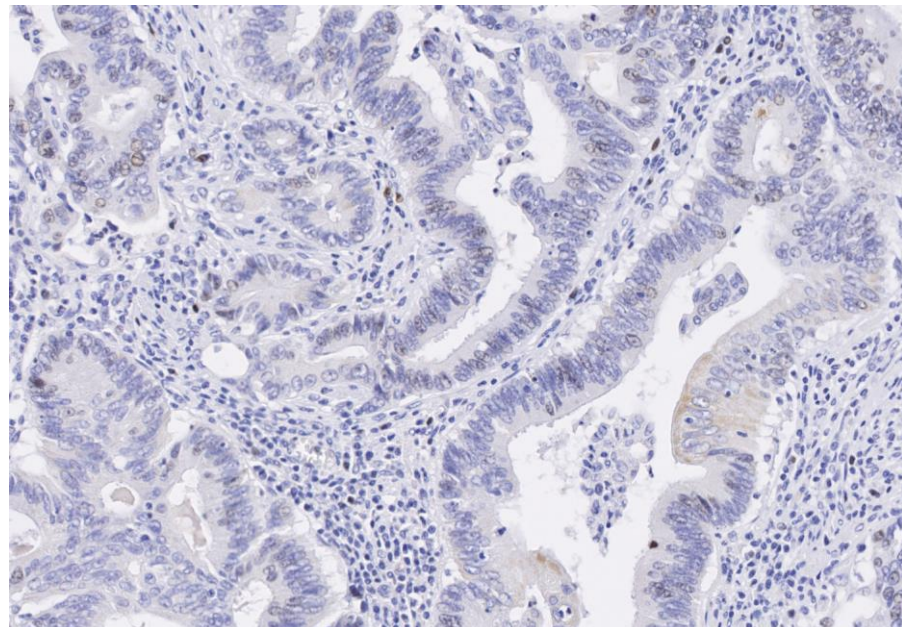


評価 4.0

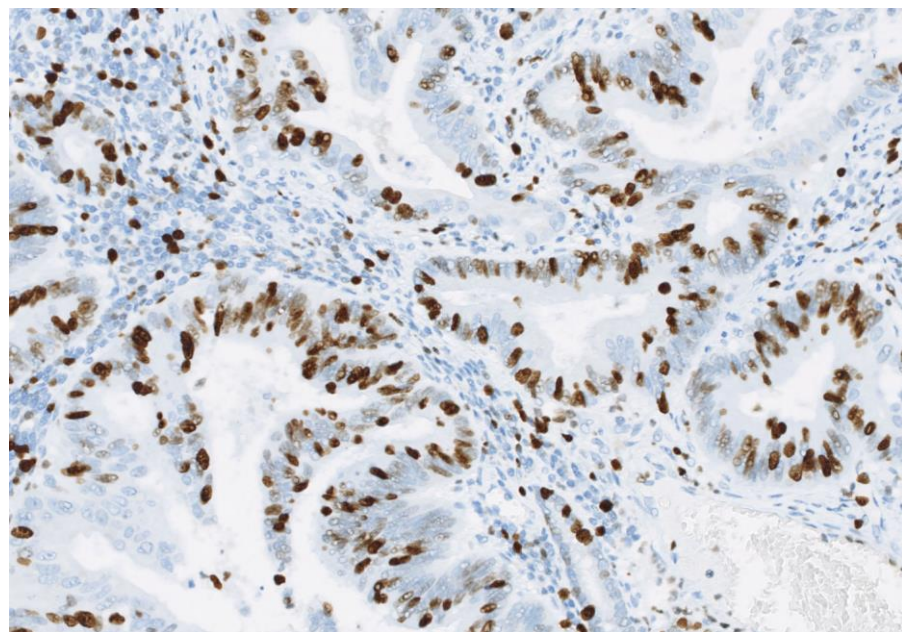
Ki67染色 偽陰性

組織②大腸癌
対物×20倍

染色強度が非常に弱く、
診断不適正標本



評価 1.1



評価 4.0

低評価原因 考察

- 偽陰性

抗体試薬の品質上の問題や、染色装置の動作上の問題等が示唆される

- 非特異反応

抗体の使用濃度がより高く、また賦活条件（賦活液pH×処理時間）がより強い施設において、反応強度がやや過剰となり非特異反応が目立つ傾向

低評価原因 考察

- 偽陰性

抗体試薬の品質上の問題や、染色装置の動作上の問題等が示唆される

※当該施設、メーカーでの検証結果

装置上の不具合（熱処理に関わる部分）があることが判明し、メーカー修理が行われた。
その後の再染色では十分な染色性を確認した。

Ki67染色 まとめ

- 1施設において染色強度の低さから診断不適正の評価がなされており、原因は装置性能上のトラブルであった。
- 評価減点理由として①非特異反応、②不適切な後染色が指摘されている。
- 非特異反応の原因としては、LSAB法使用施設での内因性ビオチンによる非特異反応や、過剰な反応強度をもたらす染色プロトコル（一次抗体濃度、賦活処理時間等）の可能性がある。今回の調査では、メーカー推奨条件での染色プロトコルを用いている施設においても過非特異反応と評価された施設もあり、染色強度が適切であるかの確認も必要である。

Ki67染色 まとめ

- 不適切な後染色については、染色率判定に影響を及ぼす可能性があるため、陰性細胞の核が認識しやすい染色を行うことが重要である。

令和元年度 免疫染色 調査項目

1. Ki67
2. p53
3. Vimentin

p53染色での試料組織染色性

【染色性： 核】

①大腸癌組織	陽性	腫瘍細胞の多くに陽性
②大腸癌組織	陰性	腫瘍細胞はほぼ陰性(ごく一部に陽性細胞を認めるのみ)
③大腸組織 (非腫瘍)	陽性	上皮細胞の一部に弱～中程度の陽性反応を認める
④肝組織 (非腫瘍)	陽性	陰性

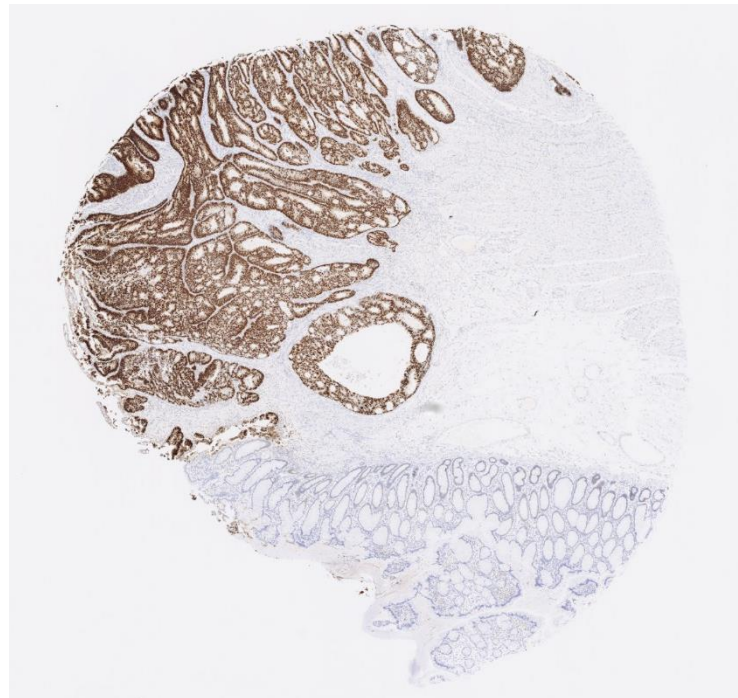
p53染色での試料組織染色性

【染色性： 核】

①大腸癌組織

陽性

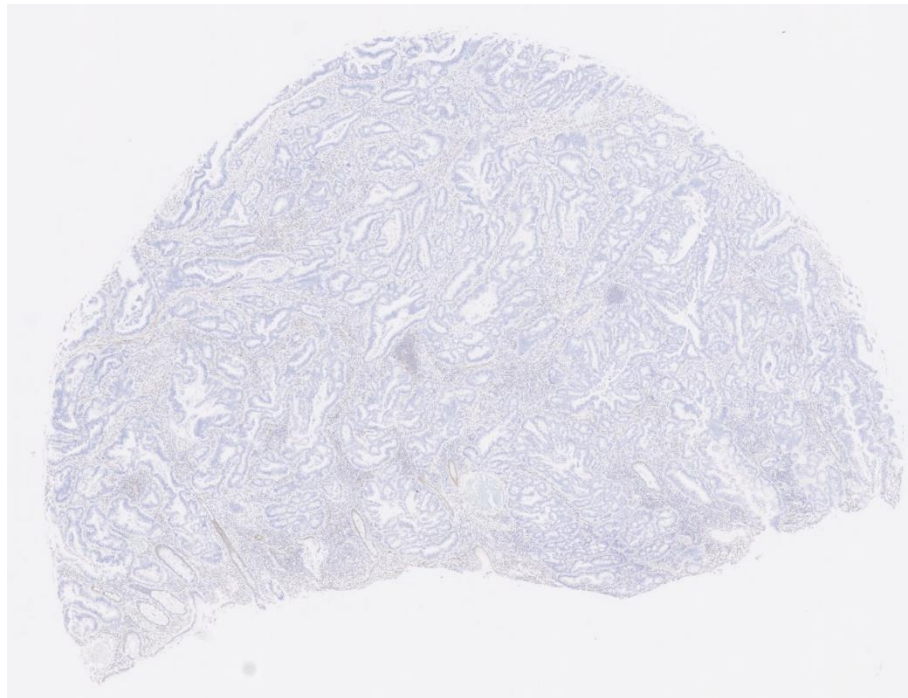
腫瘍細胞の多くに陽性



p53染色での試料組織染色性

【染色性： 核】

②大腸癌組織	陰性	腫瘍細胞はほぼ陰性(ごく一部に弱陽性細胞を認めるのみ)
--------	----	-----------------------------



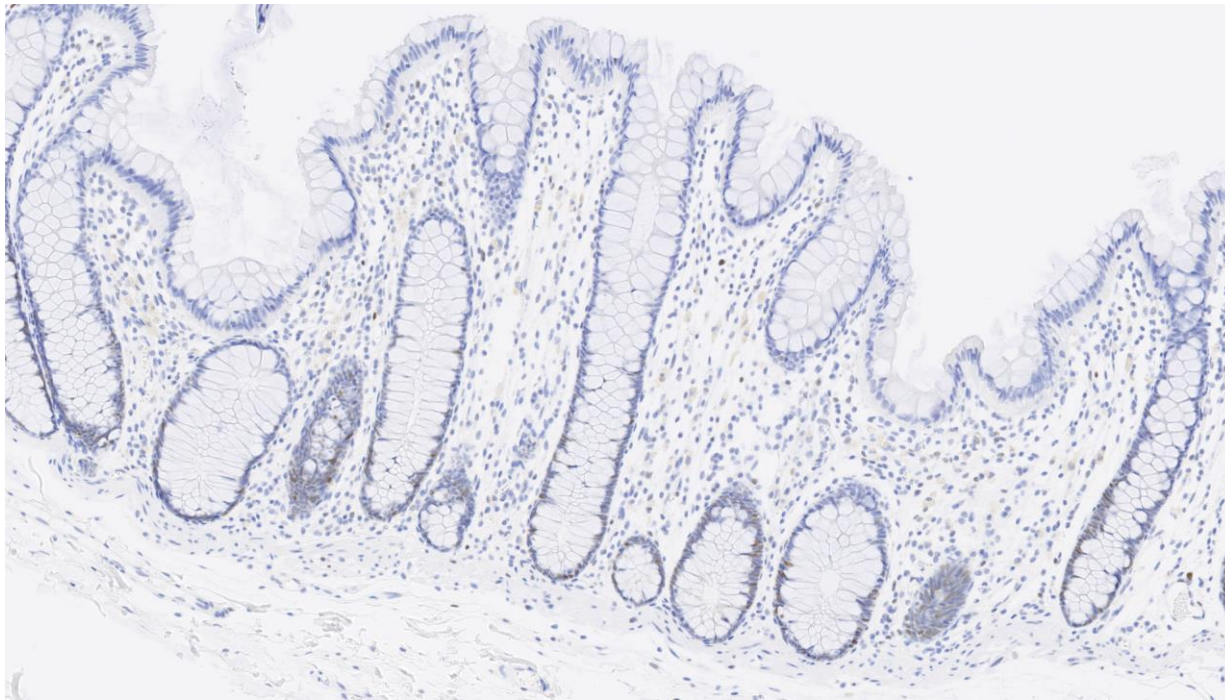
p53染色での試料組織染色性

【染色性： 核】

③大腸組織
(非腫瘍)

陽性

上皮細胞の一部に弱～中程度の陽性反応を認める



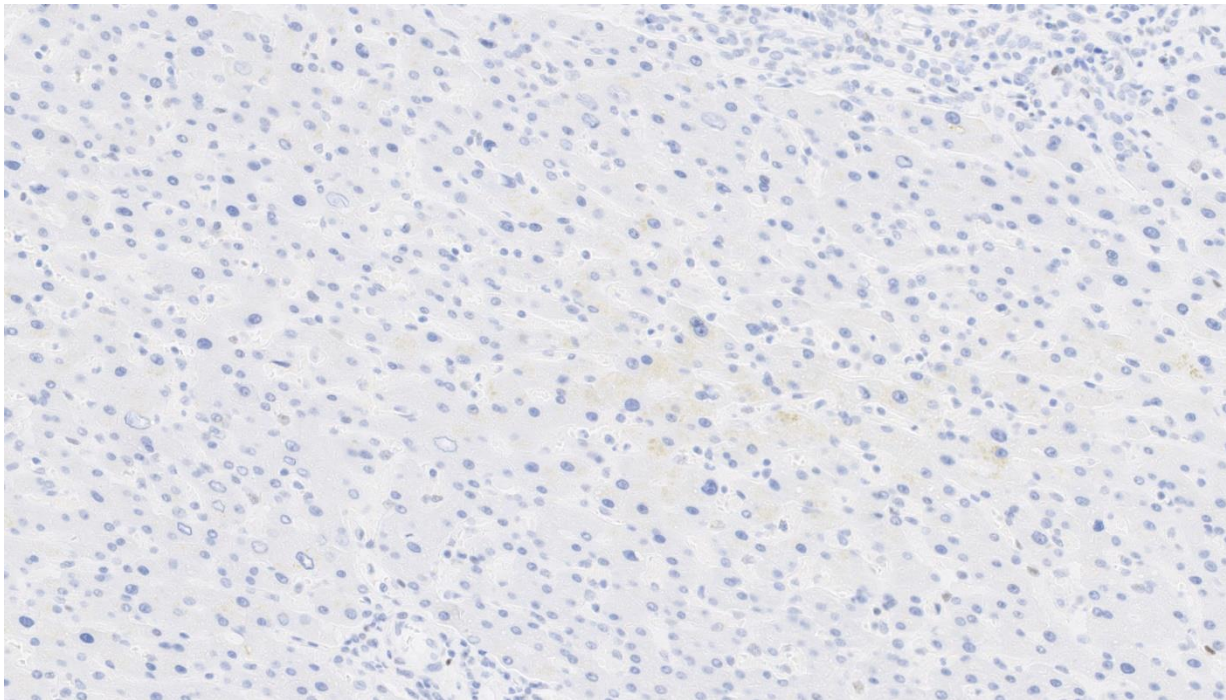
p53染色での試料組織染色性

【染色性： 核】

④肝組織
(非腫瘍)

陽性

陰性



p53染色 調査結果

p53染色 病理医評価

- 評価3.0以上の施設が全体の96%を占め、全体的に高評価が得られた
- 一部において非特異反応と偽陽性反応が原因の低評価施設あり

p53染色 評価判定結果

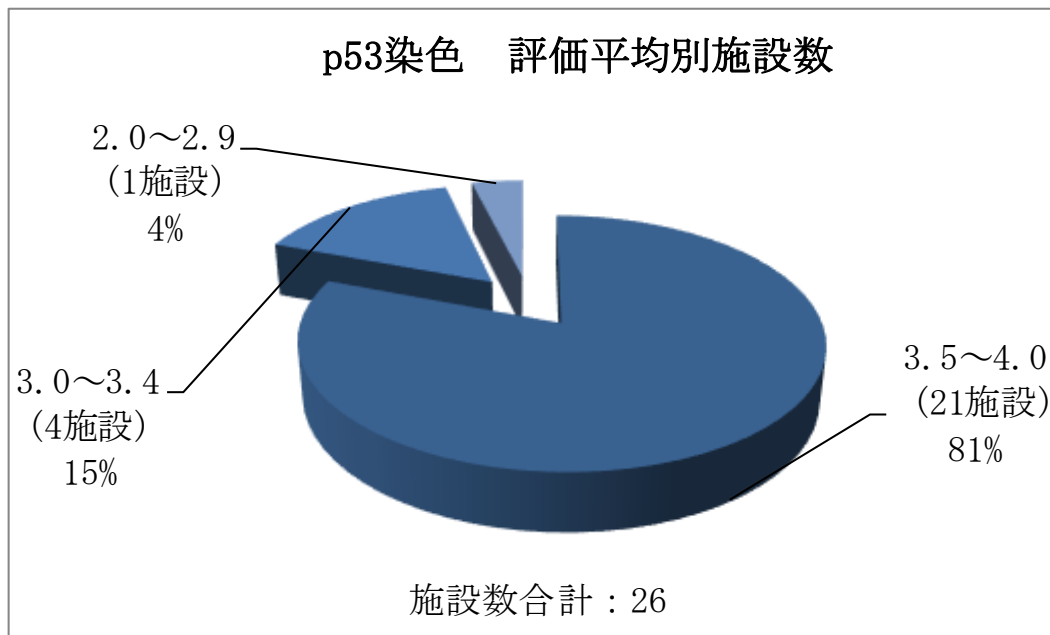


図6-8-1

表6-8-2

p53染色
マイナス評価判定別施設数

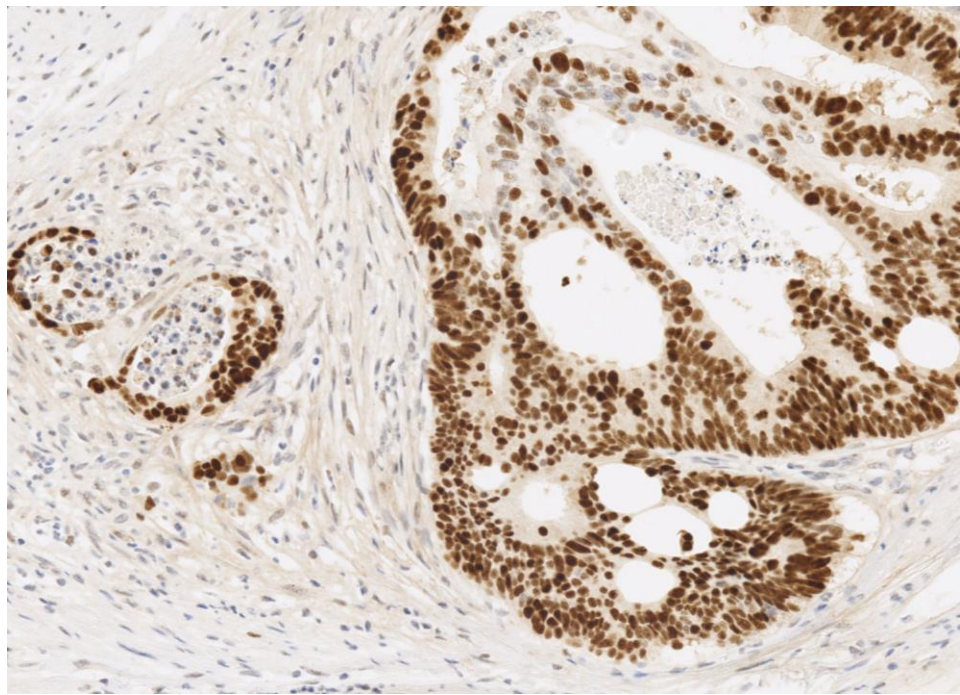
評価	施設数 (%)	
A評価	25	(96%)
B評価	1	(4%)
C評価	0	(0%)

p53染色 低評価原因

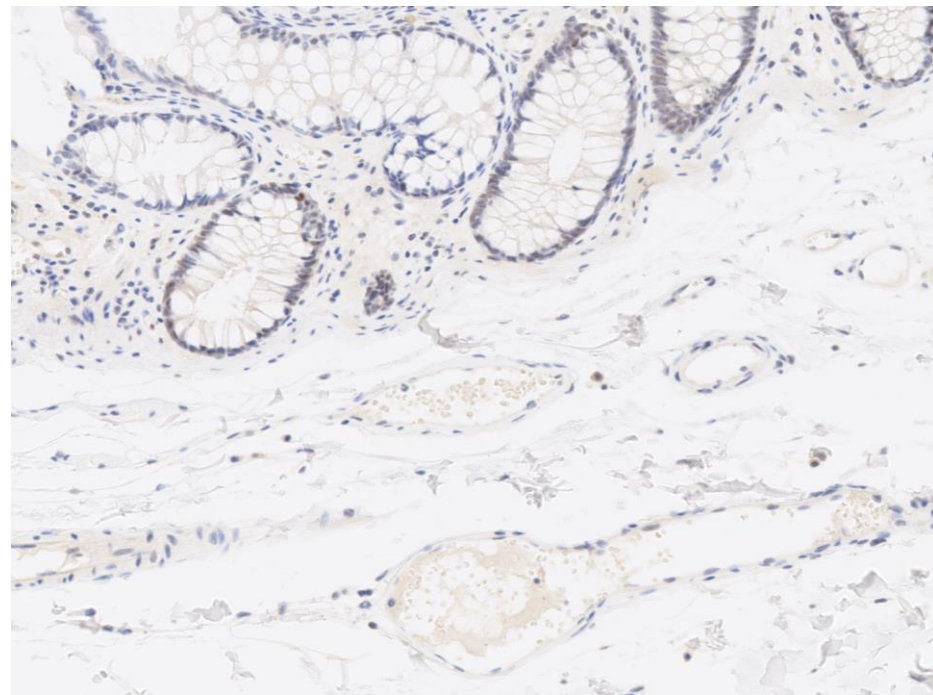
評価点	評価減点事項(表記は指摘人数)					
	偽陽性反応あり	陽性反応強度が弱い/不十分/偽陰性	陽性部位の反応ムラあり	非特異反応(背景染色)あり	核染色が薄い/不適切	組織の剥離・汚れあり
3.4	0	1	0	3	0	1
3.4	0	0	0	4	0	0
3.4	0	0	0	3	0	0
3.3	0	1	1	2	0	0
2.9	1	1	0	5	1	0

p53染色 評価判定結果

非特異反応（評価2.9）



組織① 大腸癌

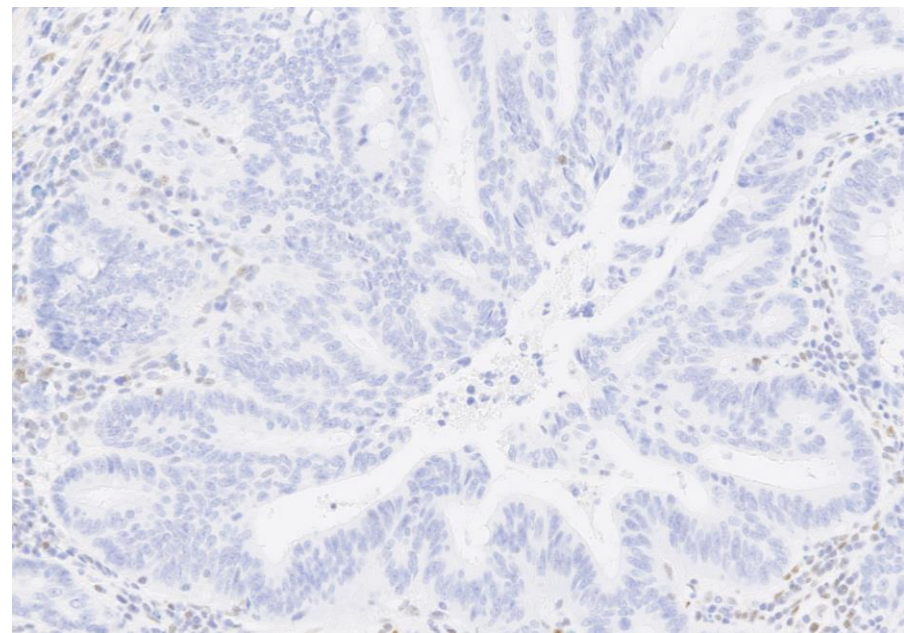


組織③ 大腸組織

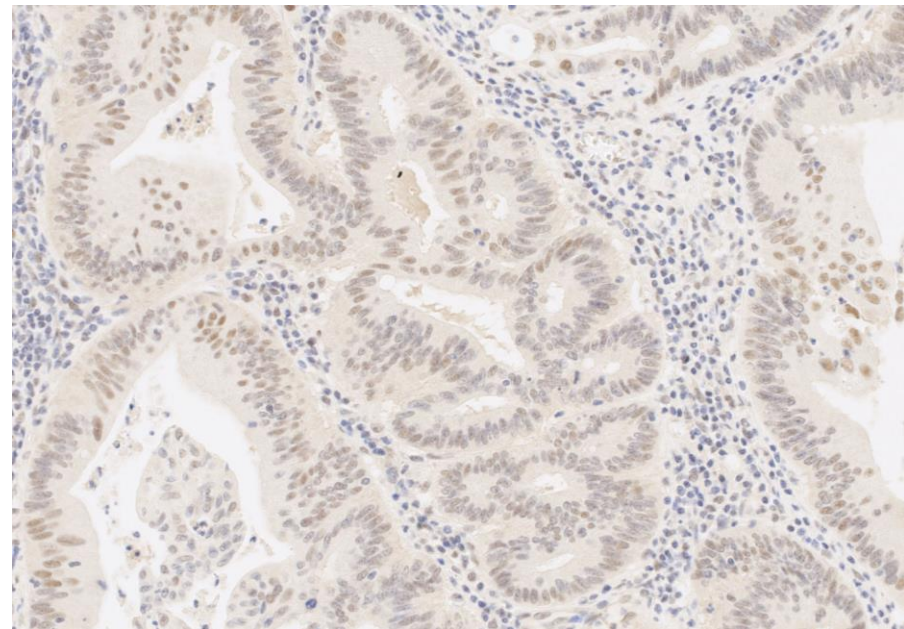
p53染色 偽陽性

組織②大腸癌
対物×20倍

※腫瘍細胞核への反応を認めるが、過剰発現と判断されるような染色性ではない



評価 4.0



評価 2.9

p53染色 考察

- 染色プロトコルの比較においては、各施設において多種多様な方法が用いられている状況でみられた。

p53染色 考察

- Agilent社 DO-7抗体/濃縮抗体を使用している施設においては、検出系試薬の違いも影響しているが、希釈倍率は1:50～1:400の違いがあり、熱処理に用いる賦活液もpH6、pH7.4、pH8.5、pH9の違いがあり、各施設で多様な染色プロトコルが用いられていた。

p53染色 考察

一次抗体 メーカー	clone	装置	検出系試薬	賦活液pH	該当 施設数
Agilent	DO-7	Roche	Roche	pH8.5	4
		Leica	Leica	pH9	2
		ニチレイ	ニチレイ	pH9	1
		ニチレイ	Agilent	pH6	3
		Agilent	Agilent	pH6	1
		用手法	Agilent	pH7.4	1
		用手法	Agilent	pH9	2
Leica	DO-7	Leica	Leica	pH9	2
		Roche	Roche	pH8.5	2
ニチレイ	DO-7	用手法	ニチレイ	pH9	1
		Leica	Leica	pH9	1
		Leica	Leica	pH6	1
Roche	DO-7	Roche	Roche	pH8.5	2
Roche	Bp-53-11	Roche	Roche	pH8.5	2
BioGenex	1801	Roche	Roche	pH8.5	1

p53染色 まとめ

- p53染色では全体として高評価が得られている
- やや低評価となった施設では、非特異反応や偽陽性反応などの過剰な染色強度が認められている
- 一次抗体と染色装置、検出系試薬が異なるメーカーでの組み合わせとなっている施設においては、適切な染色条件の検討が重要である。

令和元年度 免疫染色 調査項目

1. Ki67
2. p53
3. **Vimentin**

Vimentin染色での試料組織染色性

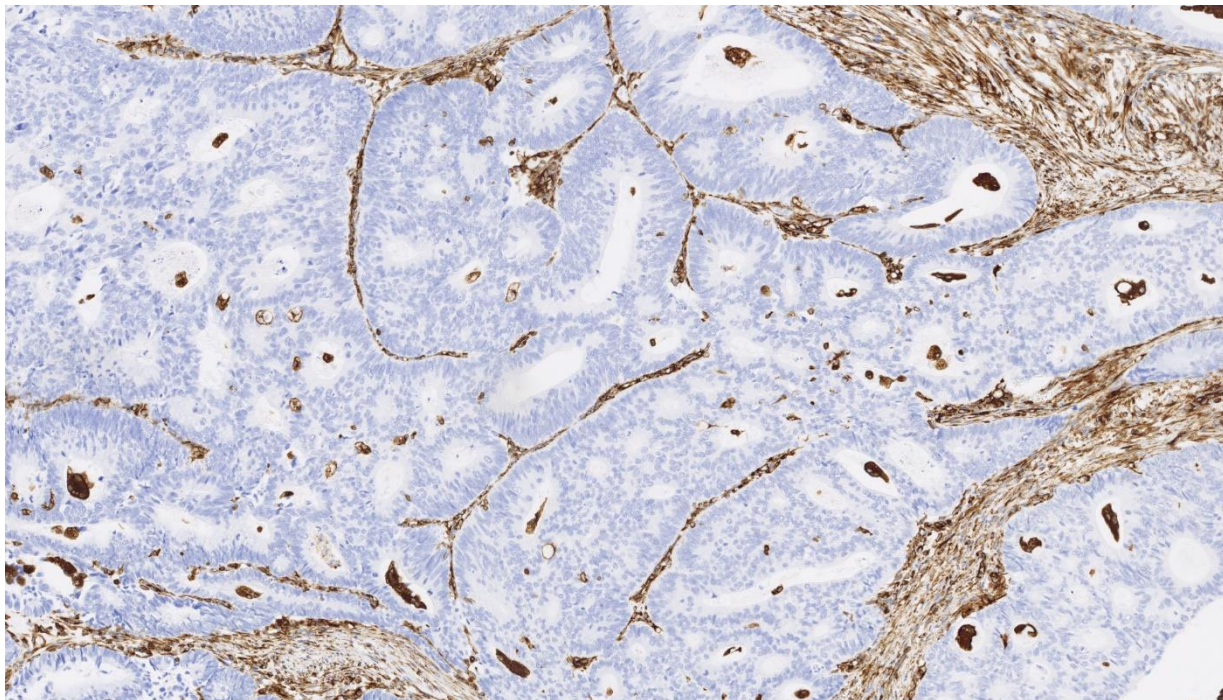
【染色性：細胞質】

①大腸癌組織	陽性	ほとんどの内皮細胞、間質細胞、マクロファージ、およびリンパ球において、中程度の明確な細胞質染色反応 ※腫瘍細胞、上皮細胞は陰性
②大腸癌組織	陽性	
③大腸組織 (非腫瘍)	陽性	
④肝組織 (非腫瘍)	陽性	類洞の実質的にすべての内皮細胞およびクッパー細胞に弱から中程度の明瞭な細胞質染色反応 ※肝細胞は陰性

Vimentin染色での試料組織染色性

【染色性：細胞質】

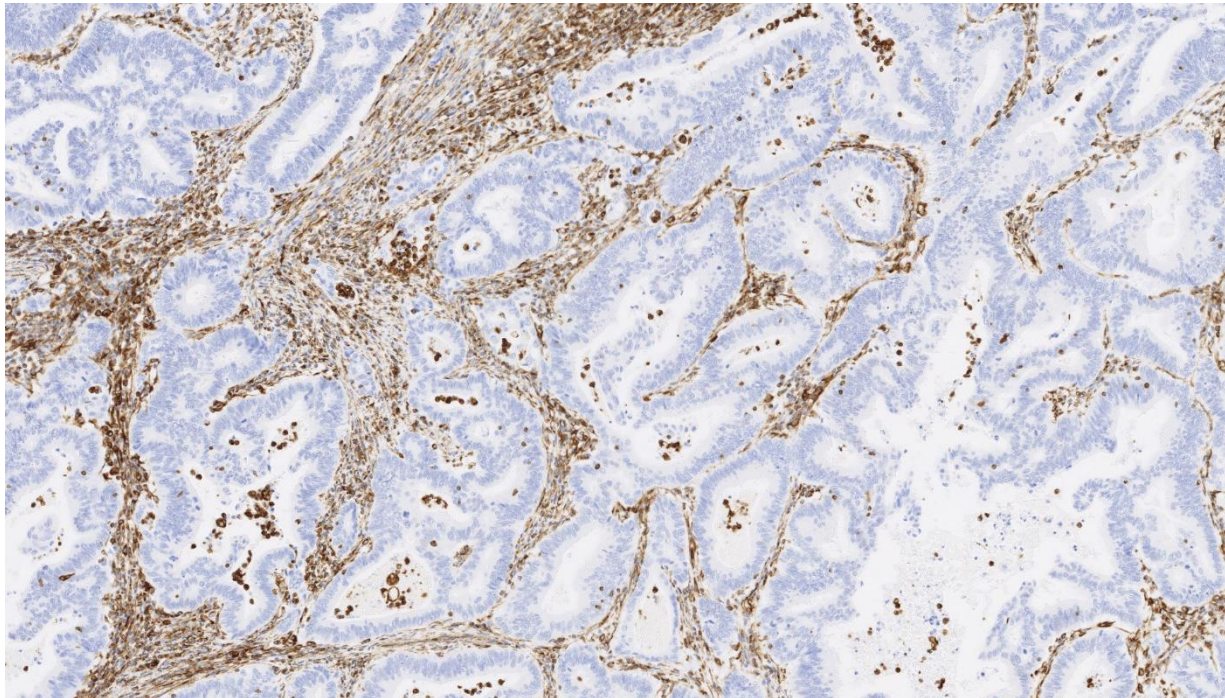
①大腸癌組織	陽性	ほとんどの内皮細胞、間質細胞、マクロファージ、およびリンパ球において、中程度の明確な細胞質染色反応 ※腫瘍細胞、上皮細胞は陰性
--------	----	--



Vimentin染色での試料組織染色性

【染色性： 細胞質 】

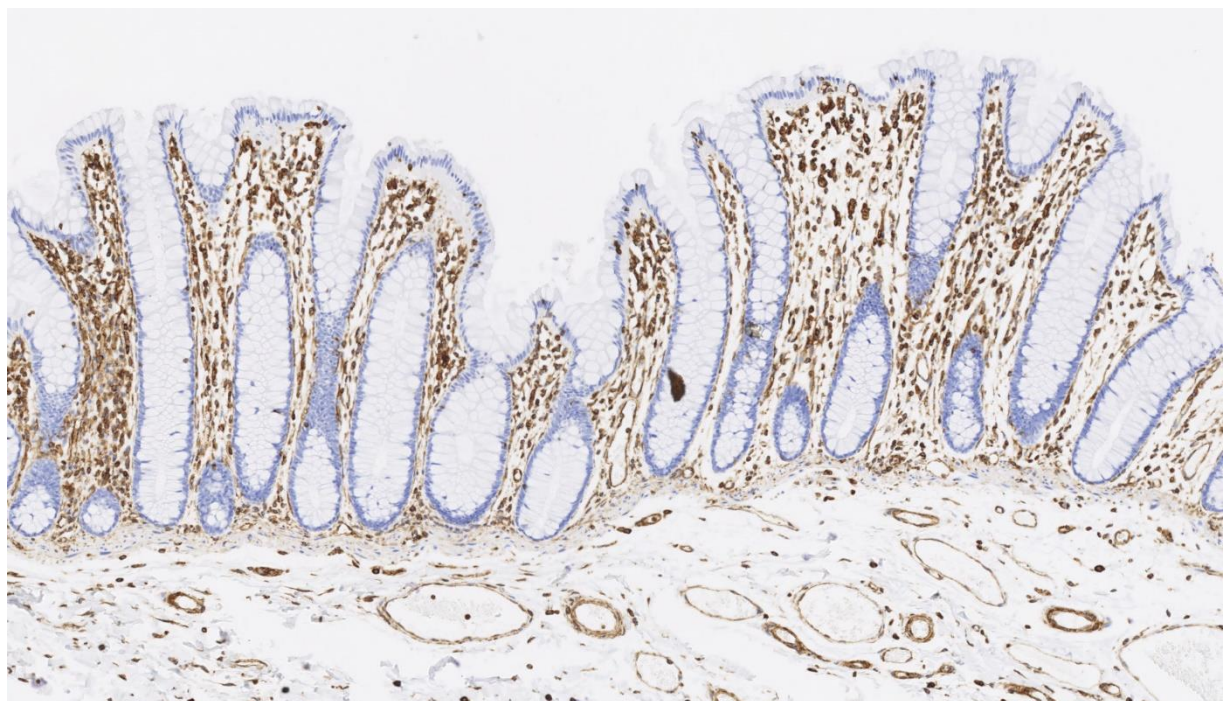
②大腸癌組織	陽性	ほとんどの内皮細胞、間質細胞、マクロファージ、およびリンパ球において、中程度の明確な細胞質染色反応 ※腫瘍細胞、上皮細胞は陰性
--------	----	--



Vimentin染色での試料組織染色性

【染色性：細胞質】

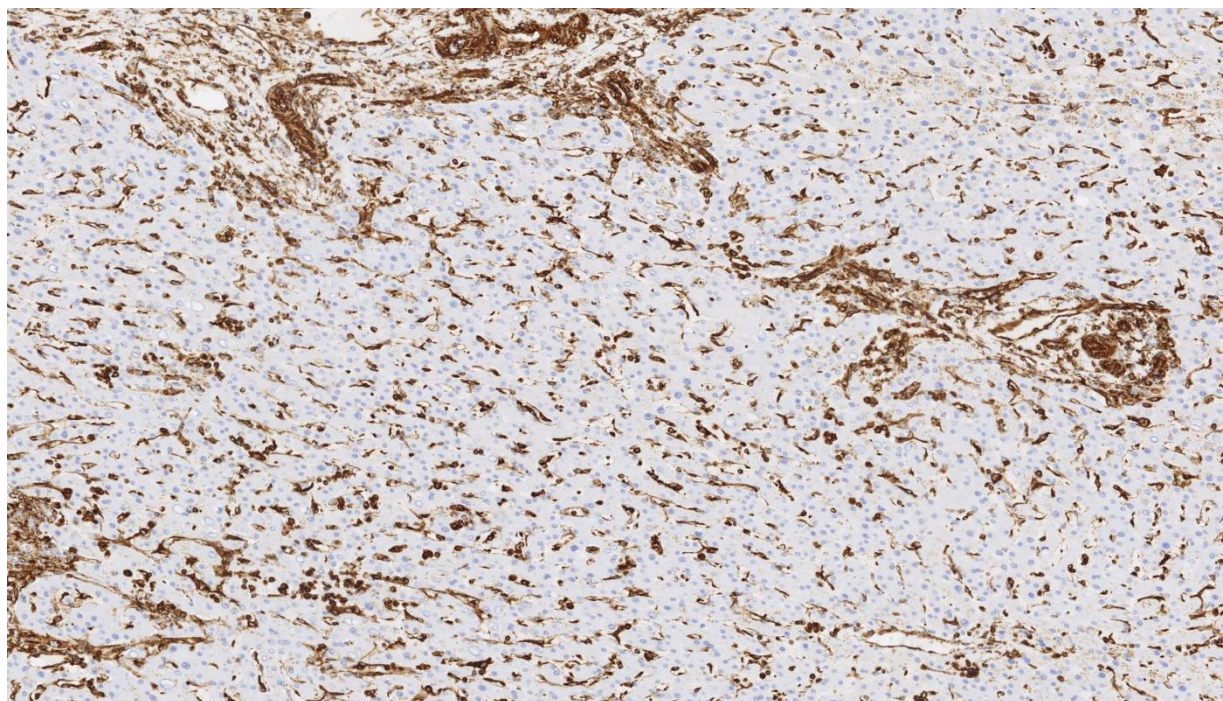
③大腸組織 (非腫瘍)	陽性	ほとんどの内皮細胞、間質細胞、マクロファージ、およびリンパ球において、中程度の明確な細胞質染色反応 ※腫瘍細胞、上皮細胞は陰性
----------------	----	--



Vimentin染色での試料組織染色性

【染色性： 細胞質】

④肝組織 (非腫瘍)	陽性	類洞の実質的にすべての内皮細胞および クッパー細胞に弱から中程度の明瞭な細胞 質染色反応 ※肝細胞は陰性
---------------	----	---



Vimentin 調査結果

Vimentin染色 病理医評価

- 評価3.0以上の施設が全体の93%を占め、全体的に高評価が得られた
- 低評価施設では、陽性反応の弱さへの改善対策が必要である

Vimentin染色 評価判定結果

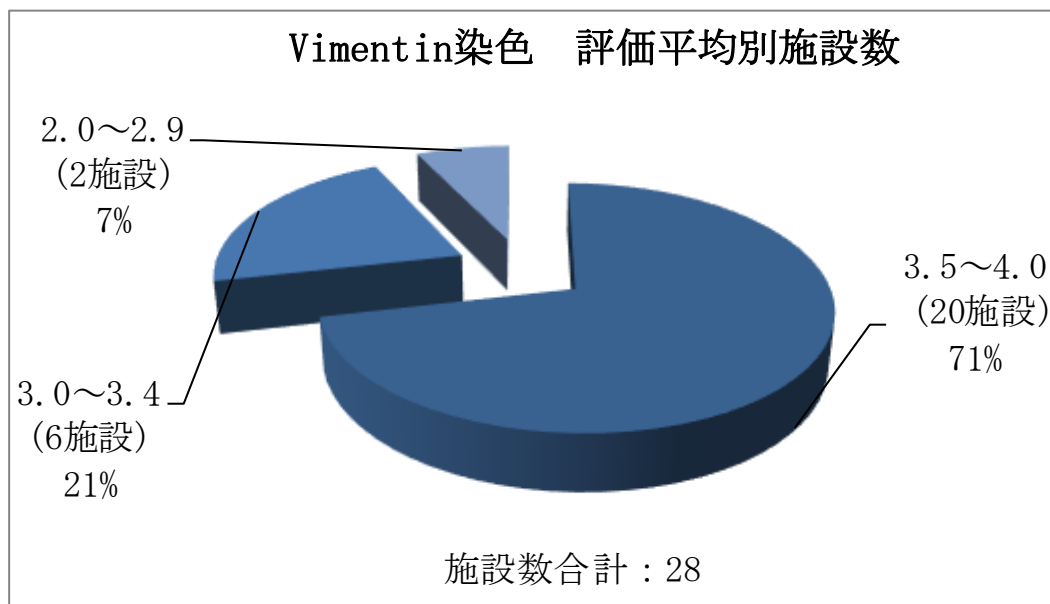


図6-9-1

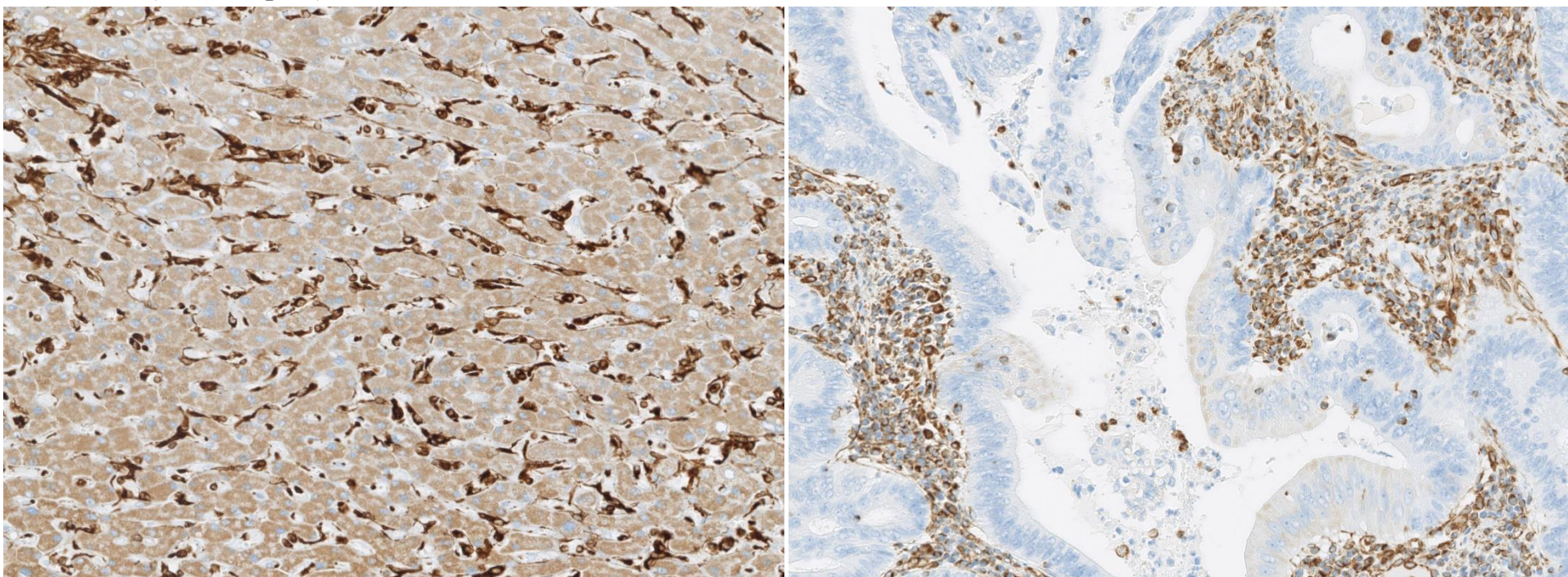
表6-9-2

Vimentin染色
マイナス評価判定別施設数

評価	施設数	(%)
A評価	28	(100%)
B評価	0	(0%)
C評価	0	(0%)

Vimentin染色 マイナス評価

〈背景〉



④肝組織での内因性ビオチンによる反応を含む、上皮細胞や腫瘍細胞の細胞質における非特異反応の有無に限って評価を実施した。

※細胞外の液性蛋白成分への非特異反応、③大腸組織の平滑筋細胞への非特異反応については評価対象としていない

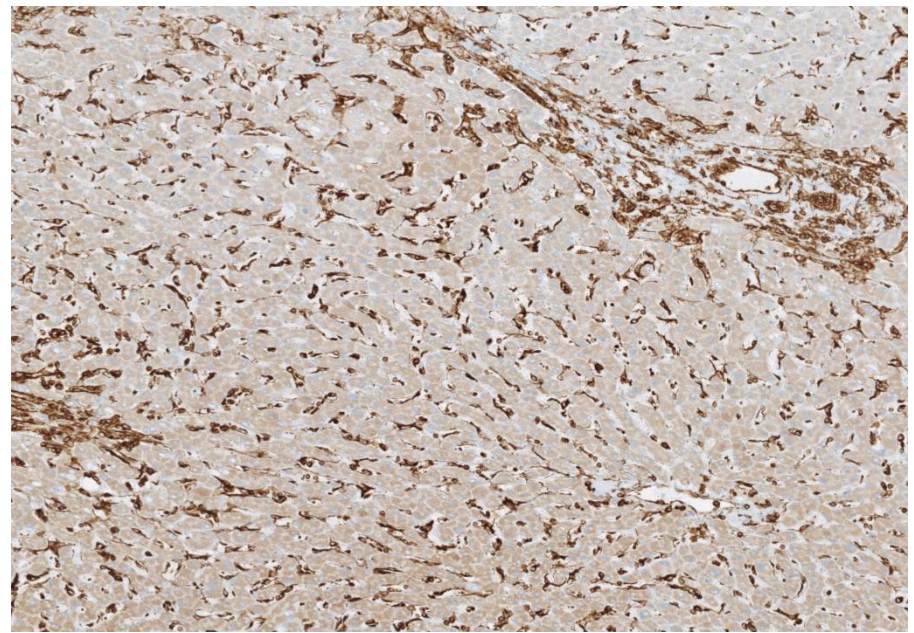
Vimentin染色 低評価原因

評価点	評価減点事項(表記は指摘人数)					
	偽陽性反応あり	陽性反応強度が弱い/不十分/偽陰性	陽性部位の反応ムラあり	非特異反応(背景染色)あり	核染色が薄い/不適切	組織の剥離・汚れあり
3.4	0	0	0	4	0	0
3.4	0	4	0	0	0	0
3.4	0	3	0	0	0	0
3.3	0	0	0	4	2	0
3.1	0	5	0	0	0	0
3.0	0	2	1	2	0	0
2.6	0	6	0	0	0	0
2.6	0	7	0	0	0	0

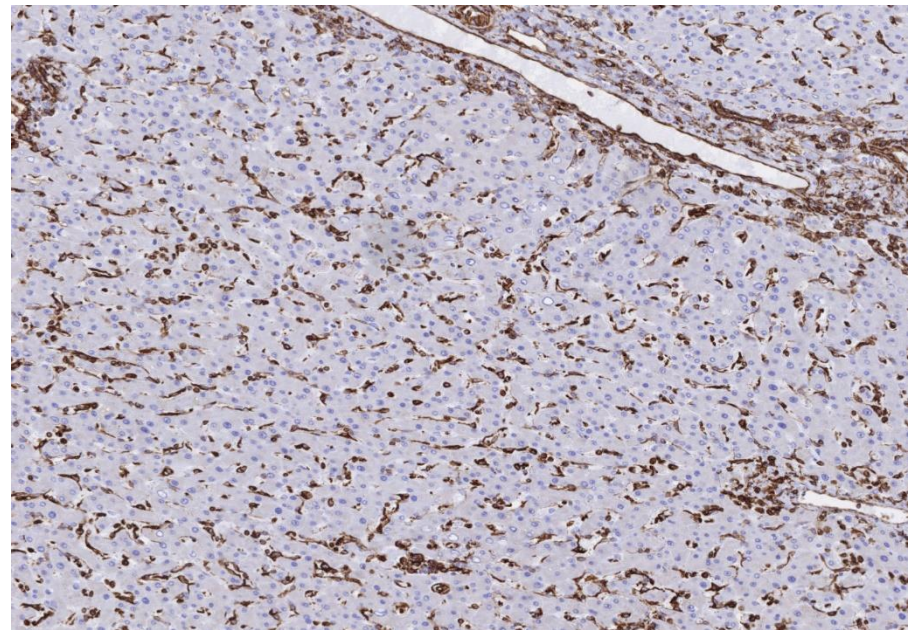
Vimentin染色 非特異反応

組織④肝臓
対物×20倍

LSAB法による肝組織での
内因性ビオチンによる非特異が
主原因



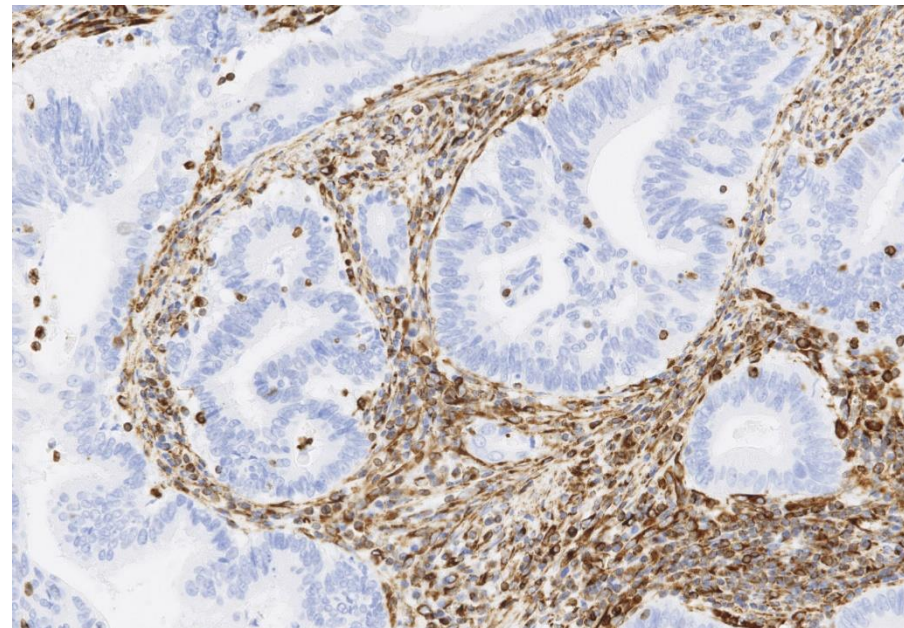
評価 3.3



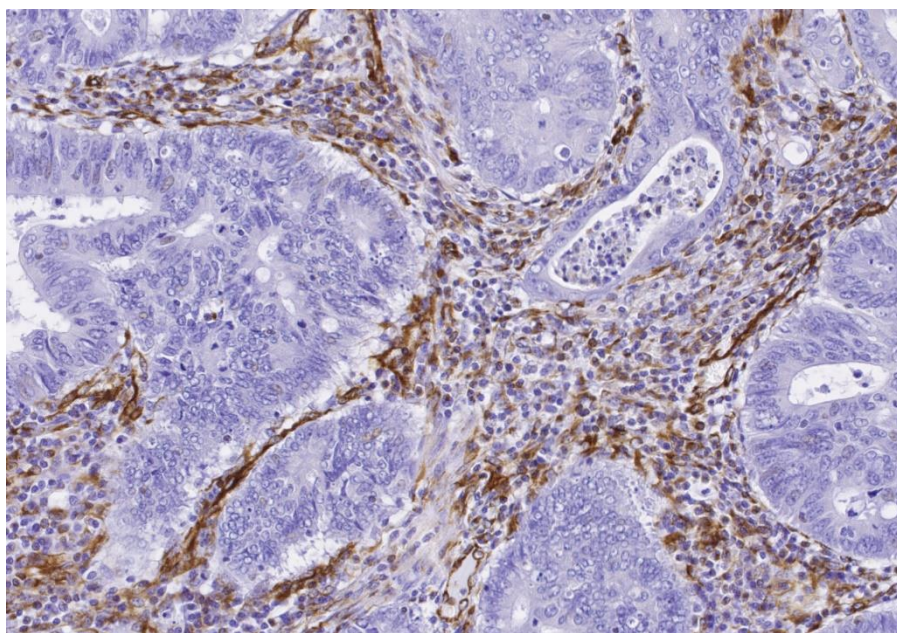
評価 4.0

Vimentin染色 反応強度“弱”

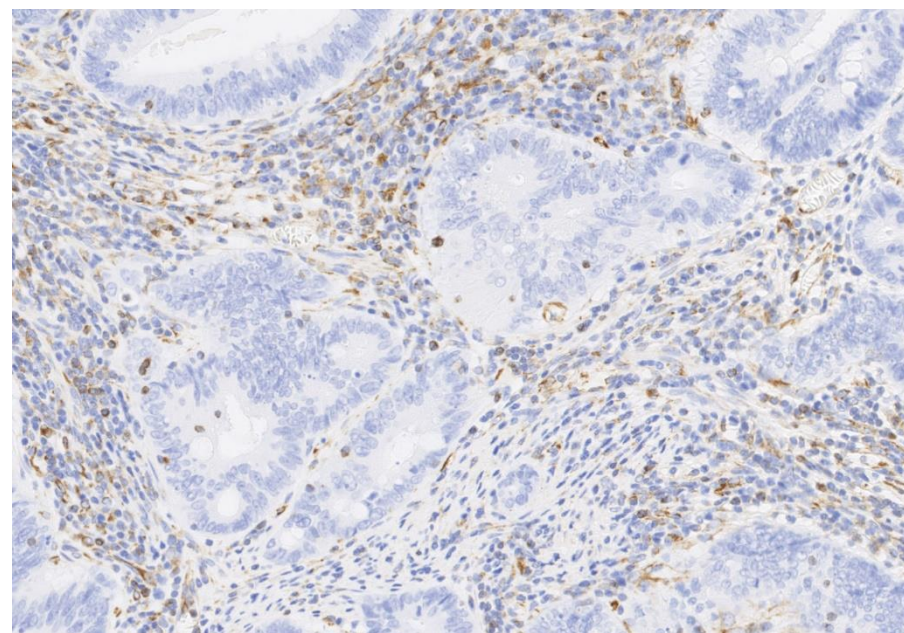
組織②大腸癌
対物×20倍



評価 4.0



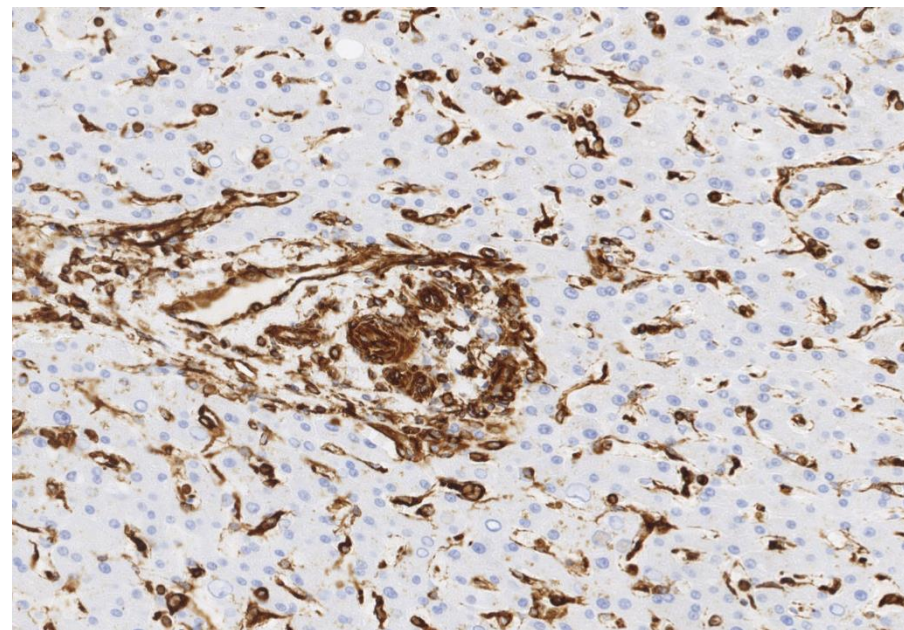
評価 2.6



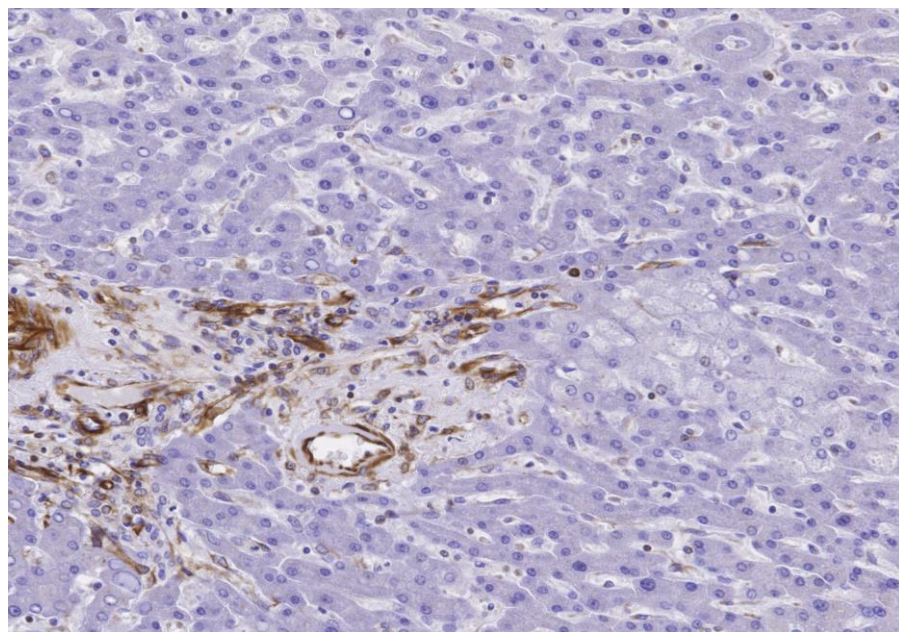
評価 2.6

Vimentin染色 反応強度“弱”

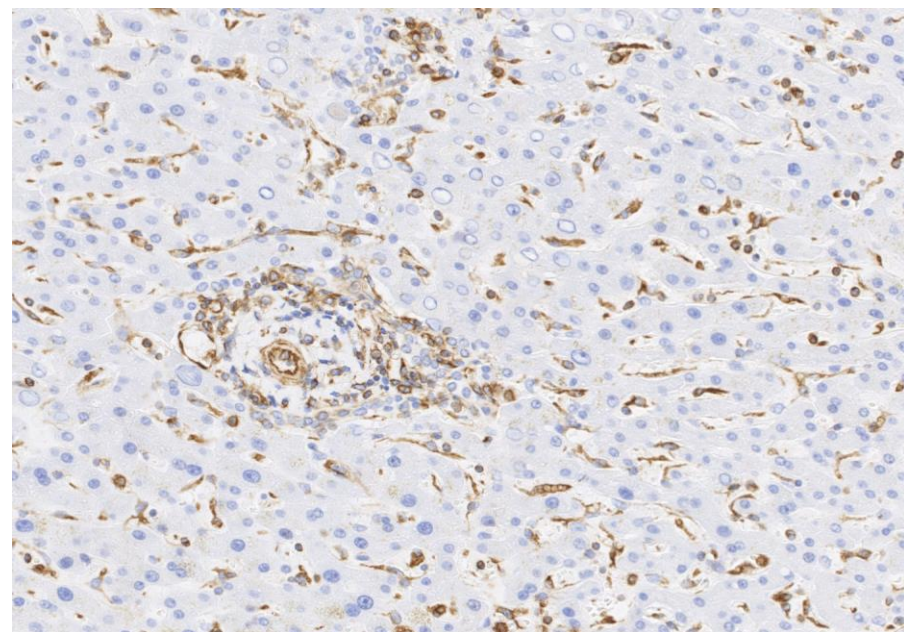
組織④肝組織
対物×20倍



評価 4.0



評価 2.6



評価 2.6

Vimentin染色 考察

- 反応強度“弱”と判定された施設のアンケート回答からは、その原因は以下のものが示唆される
 - ① 一次抗体濃度がメーカー推奨濃度に比べて低い
 - ② 賦活処理なし

Vimentin染色 まとめ

- 今回の調査においては90%以上の施設において「評価3.0」以上が得られた。
- やや評価の低くなった2施設については、一次抗体濃度が低濃度であること、賦活処理なしが原因と示唆されるため、染色プロトコルの変更で染色強度の改善が期待できる。

Vimentin染色 まとめ

- Vimentin抗体については、各施設において日常的な染色頻度が少ないのが現状と思われる。
- 各施設の病理医の求める染色強度の違いが、染色強度が弱いと判定された施設の根本的な原因である可能性も示唆されるが、Vimentin抗体で本来染まるべきものと、その適切な強度を把握しておくことが重要である。

令和元年度調査 まとめ

- 近年、自動免疫染色装置の普及により染色性は標準化されつつあり、各施設では各種メーカーの自動染色装置や染色試薬が使用されている。
- 今回の調査では同一メーカーの染色装置や試薬を用いた染色プロトコルを採用する施設間で、多少なり染色性や評価差がみられた。

令和元年度調査 まとめ

- アンケート調査からその原因を究明することは困難であるが、試薬管理状況や染色装置自体が何らかの影響を及ぼしている可能性も示唆される。
- 医療法等の改正に伴い、病理検査においても検査品質や精度の確保が求められている。各施設においては、日常的な内部精度管理を通じて、適切な染色結果を担保すること、またその管理状況が第三者にも客観的に提示できる状態にしておくことが必要である。