

平成26年度 静岡県臨床検査精度管理調査

病理検査部門

平成26年12月14日
静岡県男女共同参画センター
「あざれあ」

静岡県立静岡がんセンター 田代 広

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

- CD56, Chromogranin A, Synaptophysin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についての実態調査」
「内部精度管理方法についてのアンケート」

配布材料

10%中性緩衝ホルマリン/10%ホルマリンで固定された

- ①副腎
- ②低分化神経内分泌癌(リンパ節転移組織)
- ③カルチノイド(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 μ 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5枚

評価判定方法

①染色性評価

8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)

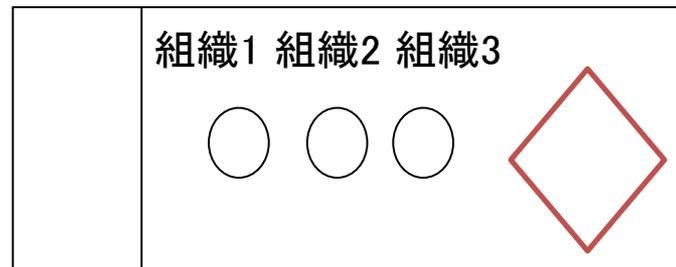
②マイナス評価

「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〉

- 実施 18施設(75%)
実施なし 6施設(25%)
調査試料と施設コントロールの染色性に
明らかな乖離は認めなかった

〈考察〉

- 各施設で用いられている組織が異なり（腫瘍組織、正常組織：膵臓、副腎、虫垂、脳など）、調査試料と施設コントロールに同じ組織が用いられていないとプレアナリシスの評価は難しい

調査におけるトラブル

① JAMTQC関連

回答入力時のシステムエラーが発生した。また複数設問の回答の紐付け設定に一部問題があり、回答時にシステムエラーが発生した

② 調査回答で重要設問項目(抗体種類)を誤記入した施設があった

③ 試料の腫瘍組織の染色性が予備検討結果と異なる結果となり、評価・集計作業に遅れが生じた

調査におけるトラブル

組織①②③はメーカーサーベイの結果から以下の染色性が確認された

	CD56	Chromogranin A	Synaptophysin
組織①	(+)	(+)	(+)
組織②	(+)	※(+/-)	(+)
組織③	※(+/-)	(+)	(+)

※(+/-) : 組織選択の検討時には把握できなかった抗体Cloneの違いによる染色性

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)

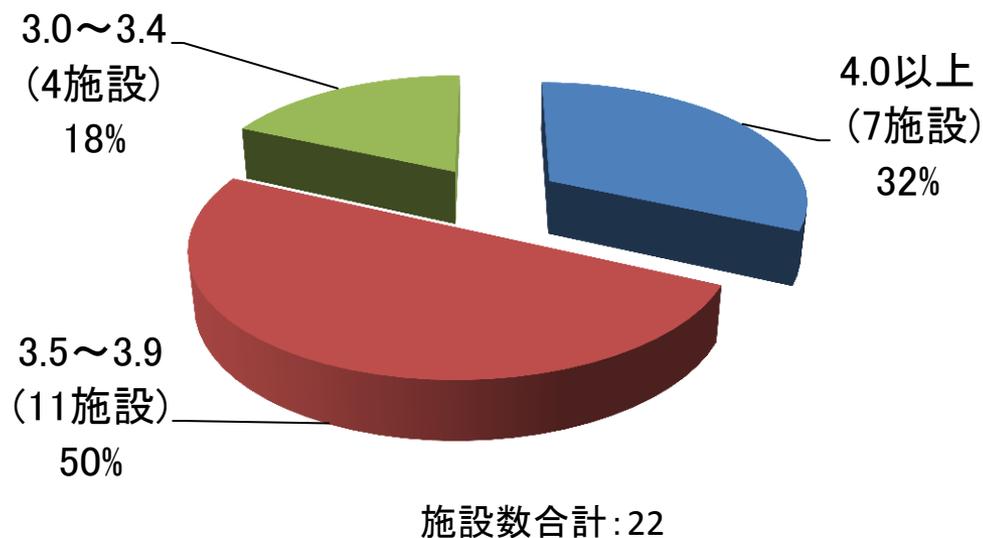
調査回答結果からの集計
CD56染色

CD56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	23 (100%)
B評価	0 (0%)
C評価	0 (0%)

評価平均別施設数



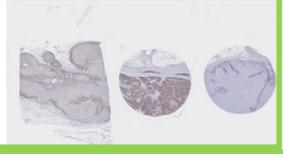
CD56染色

染色結果

116



120



132



137



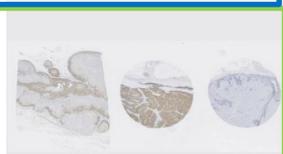
157



210



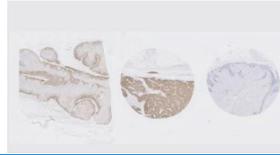
214



215



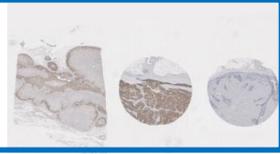
216



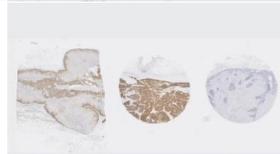
218



223



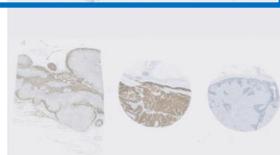
225



227



229



230



237



305



306



314



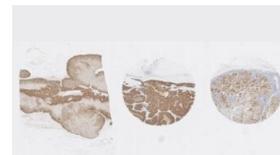
318



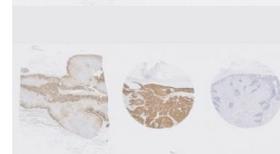
320

未実施

324



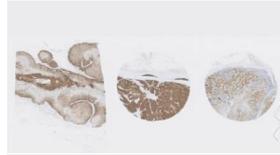
326



332



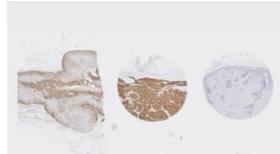
Roche①



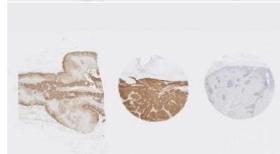
Roche②



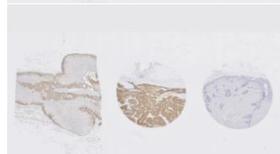
Leica①



Leica②



Leica③



DAKO



Nichirei



CD56染色 まとめ

- 評価3.5以上の施設が82%を占め、比較的良好的な結果が得られた
- 評価3.5未満の施設では、メーカー推奨条件とは異なる条件で染色施行している傾向がある
- 今回調査に使用した組織③では、一部の抗体Cloneのみで陽性反応が認められ、Cloneの違いによる染色性の差が認められた

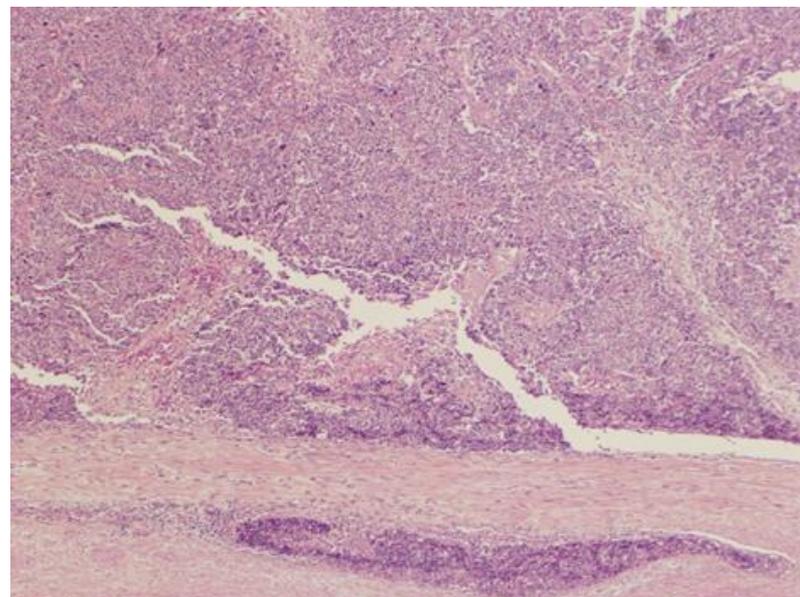
低評価原因 考察

低評価の理由は、各施設で異なっており（反応性不十分、染色斑、非特異反応など）、共通したものではありません

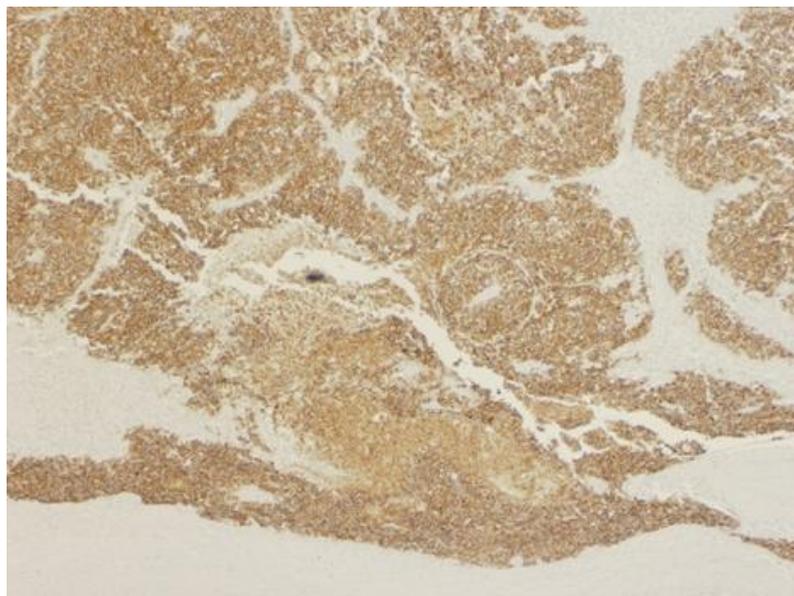
- ✓ メーカー推奨条件とは異なった条件で染色が施行（一次抗体の高い希釈倍率や弱い／強い抗原賦活処理）
- ✓ 使用試薬の調整不良や劣化が染色性に影響を与えた可能性

CD56染色 評価平均別

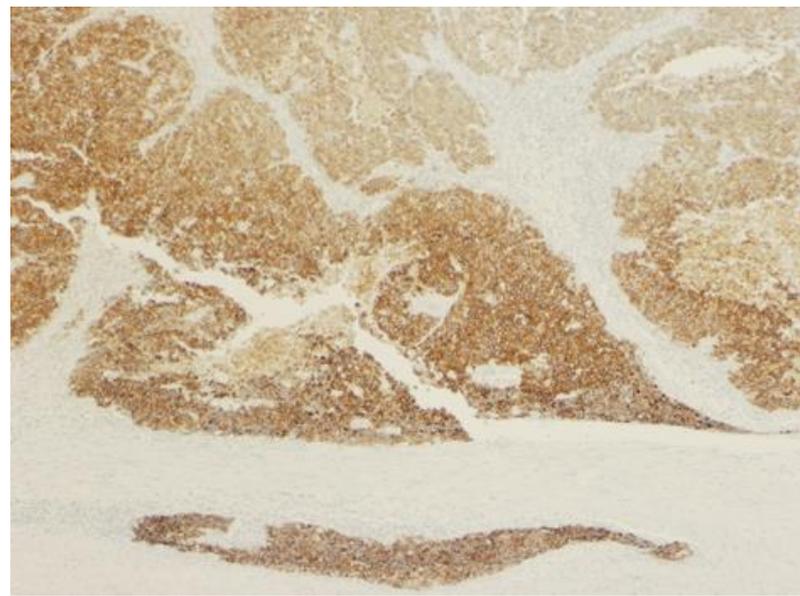
組織② 対物×4倍



HE



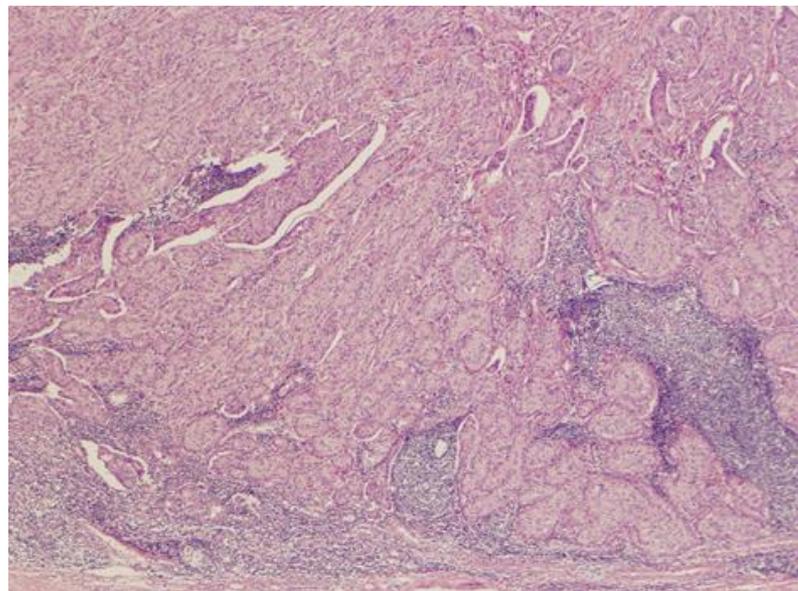
評価 4.4



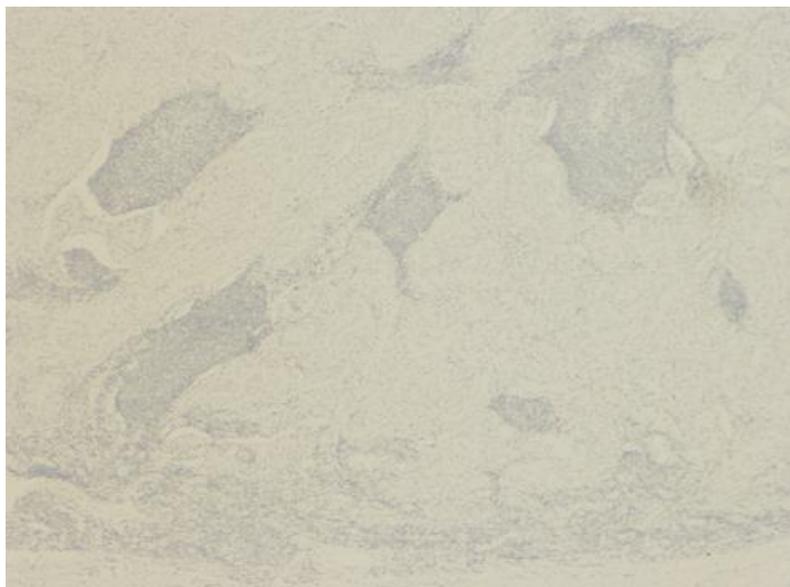
評価 3.1

CD56染色 Clone別

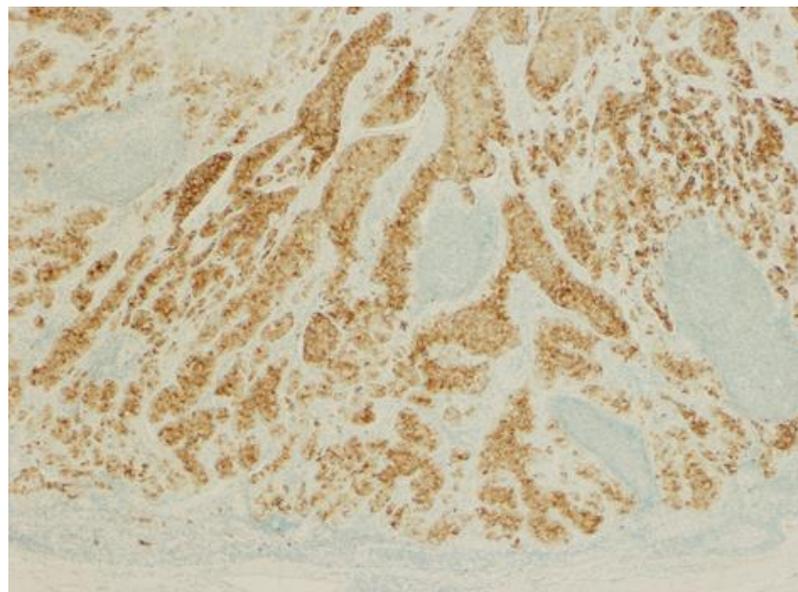
組織③ 対物×4倍



HE



〈Leica〉 1B6



〈Roche〉 MRQ42

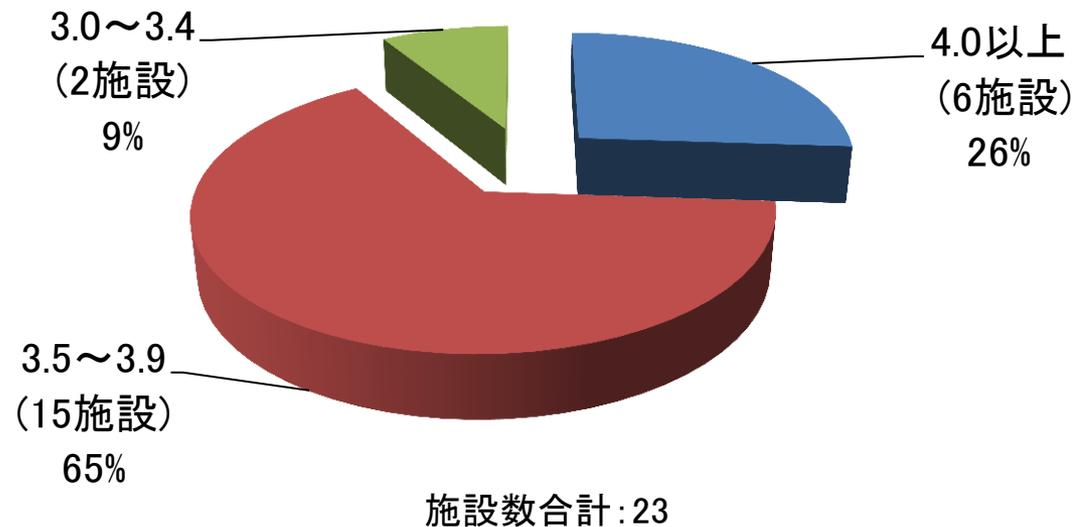
調査回答結果からの集計
Chromogranin A染色

Chromogranin A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	20 (83%)
B評価	4 (17%)
C評価	0 (0%)

評価平均別施設数



Chromogranin A染色 まとめ①

- 評価3.5以上の施設が91%を占め、比較的良
好な結果が得られた
- 抗体種類の違い（Monoclonal抗体
/Polyclonal抗体）で組織②の染色性が大き
く異なる結果となった
⇒感度/特異度の違いが影響か

Ch-A染色 染色結果

116		216		305		Roche①	
120		218		306		Roche②	
132		223		314		Leica①	
137		225		318		Leica②	
157		227		320		DAKO①	
210		229		324		DAKO②	
214		230		326		Nichirei	
215		237		332			

Ch-A染色

染色結果

〈抗体別〉

Polyclonal抗体

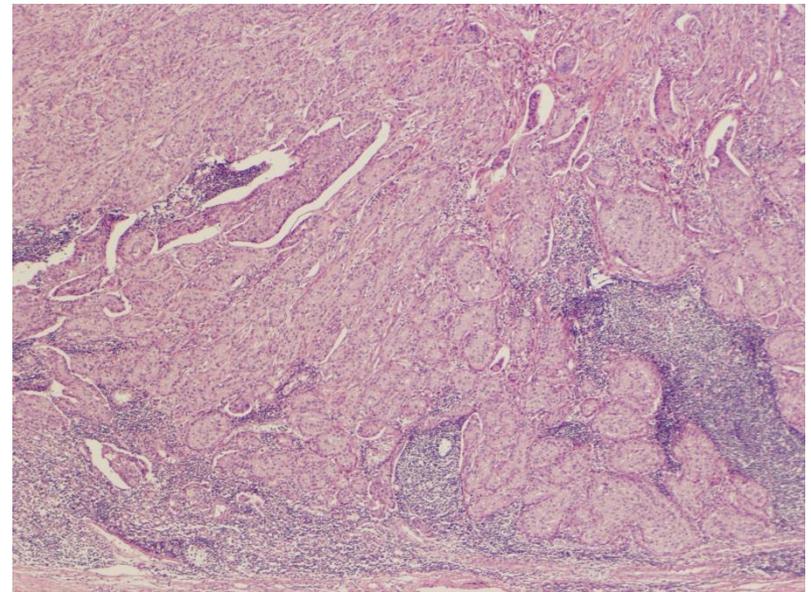
Monoclonal抗体

Dako ②	ニチレイ
157	116
215	214
216	223
225	227
314	229
332	

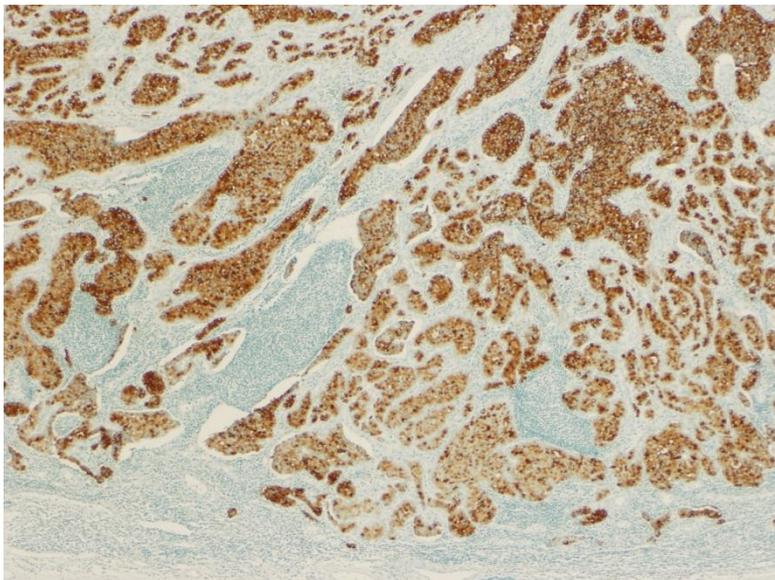
Leica ①	Dako ①	Roche ①
Leica ②	120	Roche ②
137	210	132
230	218	320
237	306	324
305		
326		不明 318

Ch-A染色 評価平均別

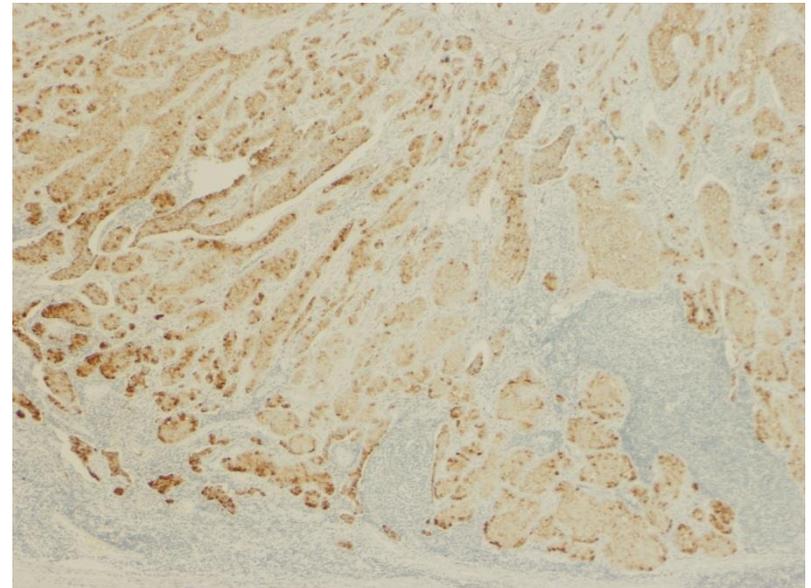
組織③ 対物×4倍



HE



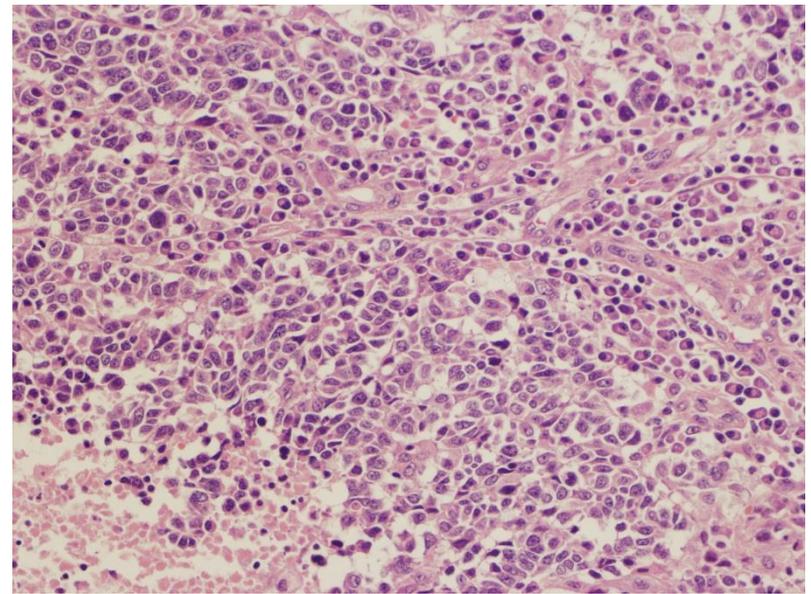
評価 4.3



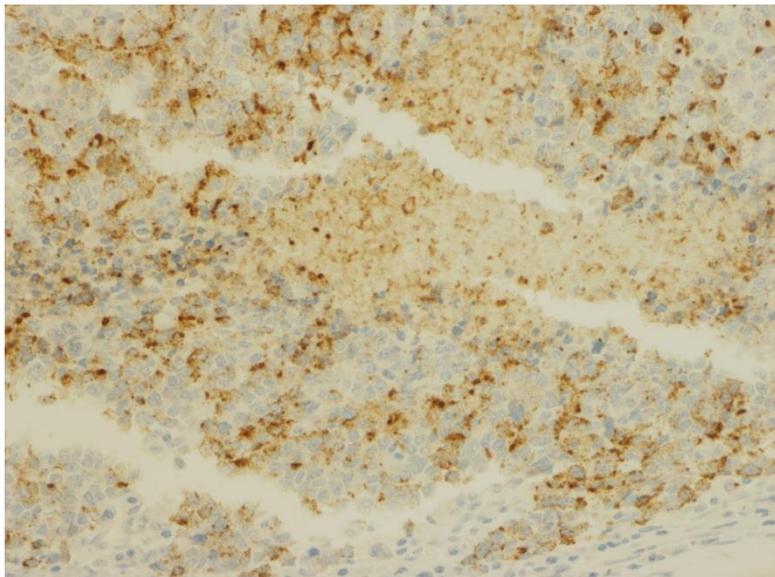
評価 3.1

Ch-A染色 Clone別

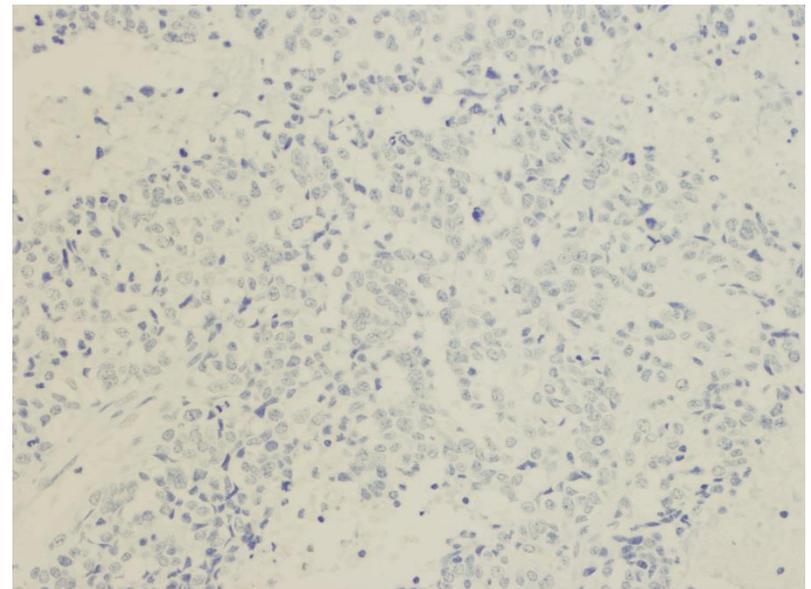
組織② 対物×20倍



HE



〈DAKO〉 Polyclonal



〈Leica〉 5H7

Chromogranin A染色 まとめ②

- 抗原賦活により組織②では陽性細胞の増加や反応の増強が認められた
(※組織①、③では賦活の有無による染色性の差は少ない)

各施設の賦活処理の有無

：メーカー推奨方法に関わらず、対応が異なる

- ◎ 染色条件設定時には正常組織だけではなく、腫瘍組織の反応性も確認することが重要

Ch-A染色

染色結果

〈抗体別〉

Polyclonal抗体

Monoclonal抗体

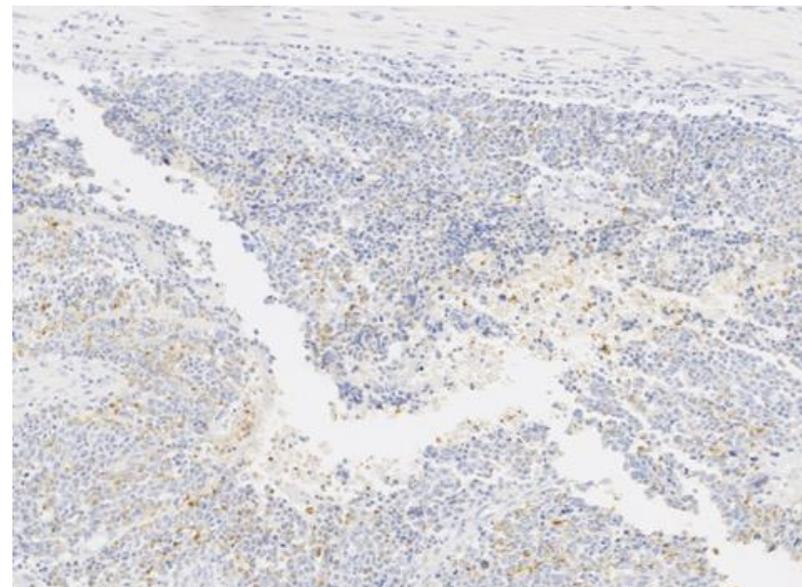
Dako ②		ニチレイ	
157		116	
215		214	
216		223	
225		227	
314		229	
332			

Leica ①		Dako ①		Roche ①	
Leica ②		120		Roche ②	
137		210		132	
230		218		320	
237		306		324	
305			賦活なし		賦活あり
326				不明 318	

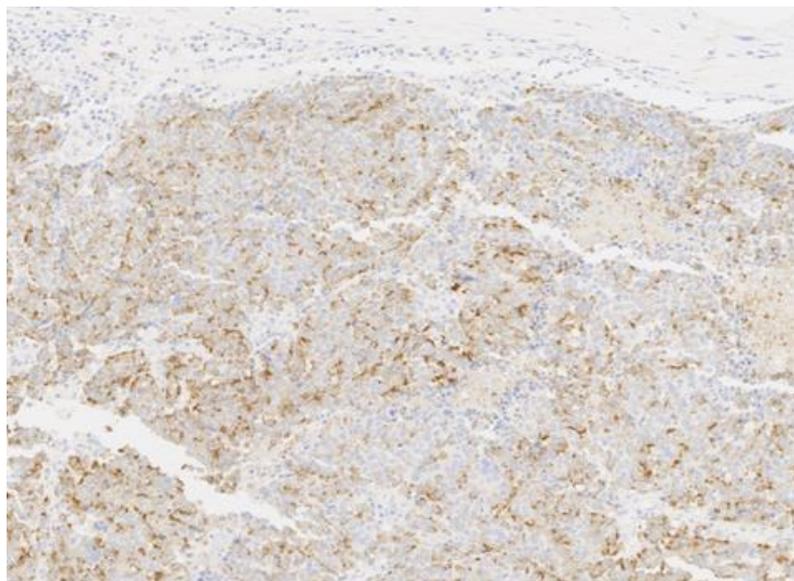
Ch-A染色 賦活の有無

DAKO Poly使用施設

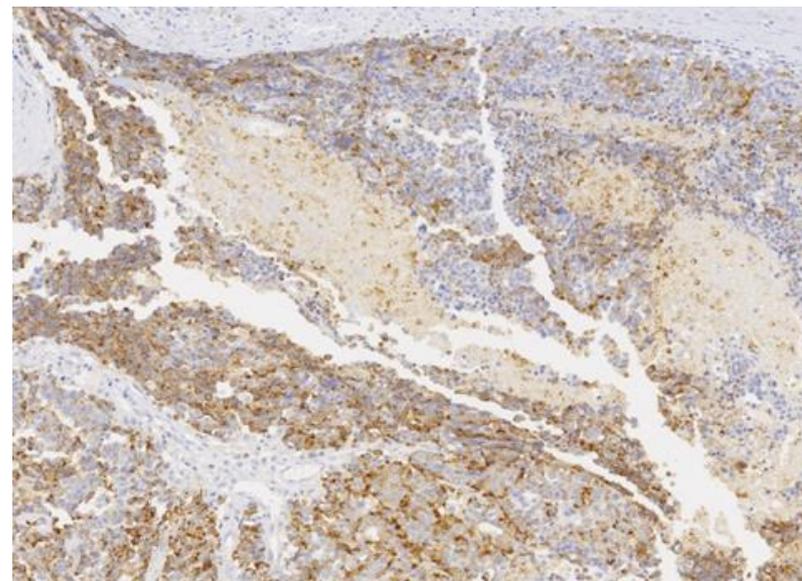
組織② 対物×10倍



評価3.9 賦活(-)



評価3.9 賦活pH6



評価3.9 賦活pH9

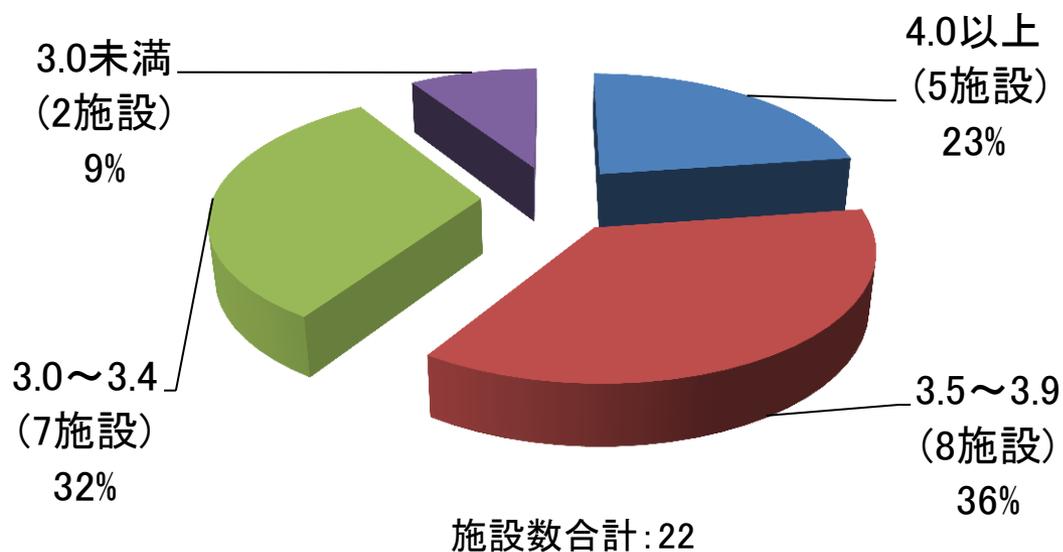
調査回答結果からの集計
Synaptophysin染色

Synaptophysin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	22 (96%)
B評価	1 (4%)
C評価	0 (0%)

評価平均別施設数



Synaptophysin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2施設あり、早急な是正処置が必要である

⇒低評価の下位4施設では共通した一次抗体を使用し、また共通して高pH系抗原賦活液での熱処理が実施されていた（メーカー推奨は低pH系抗原賦活液による熱処理）

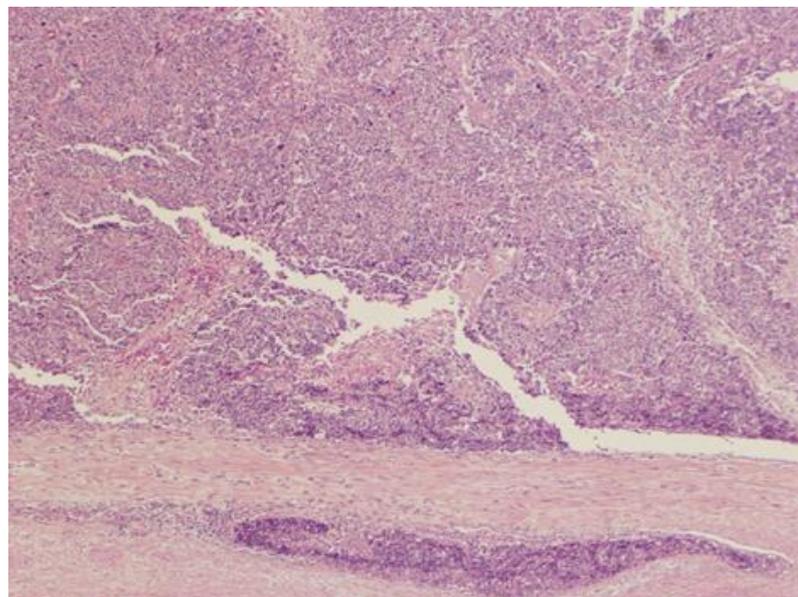
Synaptophysin染色

染色結果

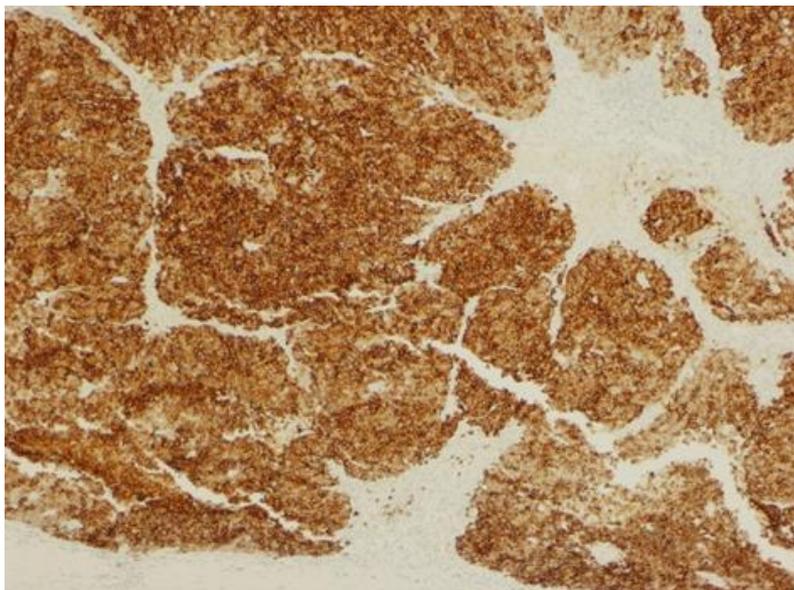
116		216		305		Roche①	
120		218		306		Roche②	
132		223		314		Leica①	
137		225		318		Leica②	
157		227		320	未実施	DAKO	
210		229		324		Nichirei	
214		230		326			
215		237		332			

Syn染色 評価平均別

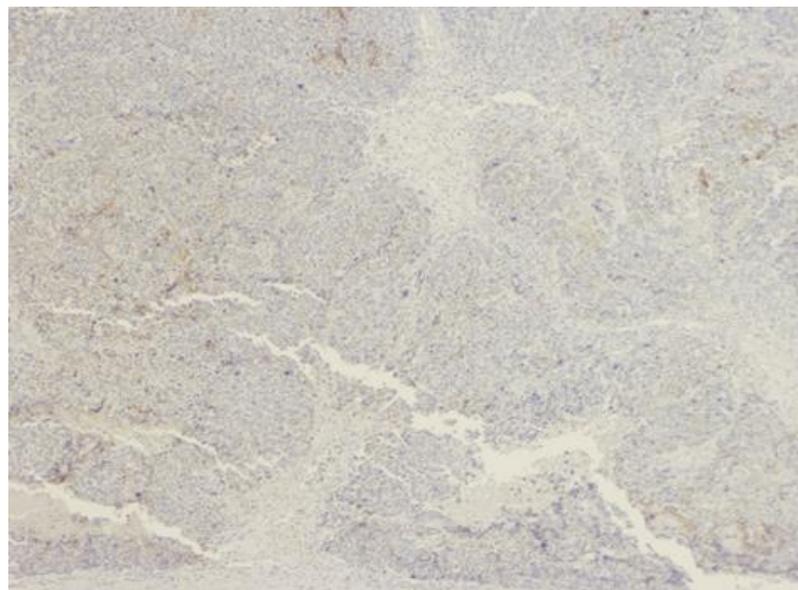
組織② 対物×4倍



HE



評価 4.3



評価 1.6

まとめ

- 神経内分泌マーカーの検索は複数の抗体を組み合わせて行われる
(Chromogranin A, Synaptophysin)

しかし、抗体Cloneの違いで特定の症例では染色性に大きな差が生じている可能性があること、抗体またはCloneの違いで検出感度・特異度に差があることを頭に入れておくことが必要である

まとめ

- メーカーサーベイ標本の染色性、染色条件と自施設のものとの比較

低評価となった施設がメーカー推奨条件から外れた条件で染色施行している場合には、そのことが原因である可能性が高い

またメーカーとほぼ同等の条件で染色施行しているにも関わらず低評価を受けた施設では、使用試薬の調整不良や劣化がないか確認を行って頂きたい

◎ 染色の自動化

技術者のテクニカルエラーが染色性を左右する

アンケート調査結果

プレアナリシス工程の実態調査

生検材料の固定について

採取時刻記録、固定時間管理ともに行っている	5(20.8%)
採取時刻記録のみ行っている	1(4.2%)
固定時間管理のみ行っている	7(29.2%)
どちらも行っていない	11(45.8%)

手術材料の固定について

固定前時間の把握、固定時間管理ともに行っている	7(29.2%)
固定前時間の把握のみ行っている	0(0.0%)
固定時間の管理のみ行っていない	6(25.0%)
どちらも行っていない	11(45.8%)

プレアナリシス工程の実態調査

生検・手術

固定時間管理を行っていない施設が約46%

生検/手術で固定時間管理を行っていない施設はほぼ同一施設である

手術材料 固定時間管理

固定操作に病理関係者が関与しない施設が50%（12施設）

固定前時間、固定時間管理を行っていない施設はホルマリン交換頻度が少ない傾向あり

固定時間の施設内ルールありにもかかわらず、固定時間管理を行っていない施設あり（3施設）

手術材料ホルマリン固定液の管理

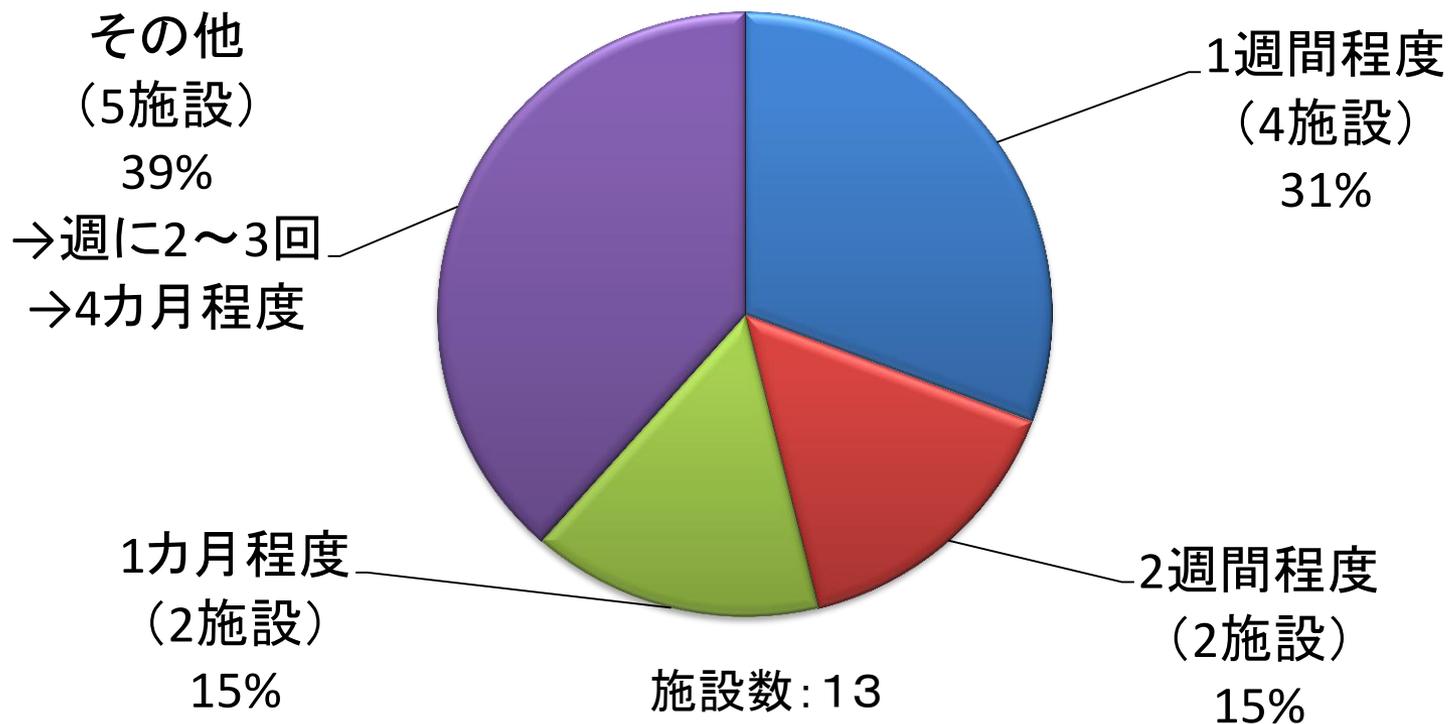
施設により再利用の有無、交換目安や交換頻度は大きく異なる

→使用する固定容器の違い、検体量の違いなど施設の規模や特徴の違いが影響か

→固定液の再利用や長期間の使用では、施設内の検体間差が示唆される

プレアナリシス工程の実態調査

手術材料固定液 定期交換の頻度



内部精度管理についてのアンケート

プレアナリシス

- ・ホルマリン固定液や固定時間の管理
- ・切片の伸展・乾燥温度の管理
- ・薄切から染色までの日数の管理
- ・未染色標本の保管・管理

アナリシス

- ・最適な染色条件の検討
- ・染色条件検討標本の保管
- ・抗体データシートの保管
- ・抗体の適切な保存、管理、記録
- ・染色試薬の適切な保存、管理、記録
- ・施設内の染色マニュアルの作成

内部精度管理についてのアンケート

ポストアナリシス

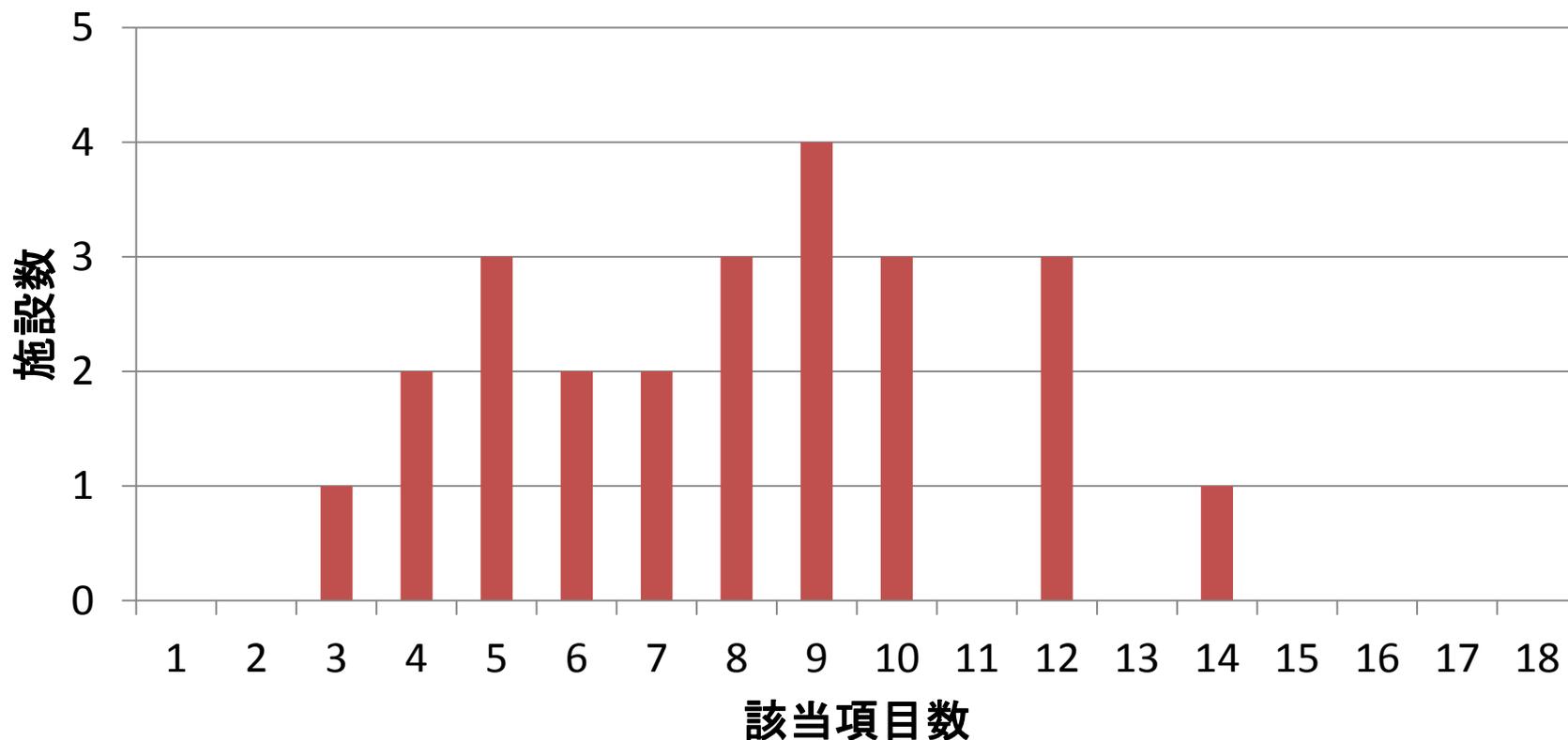
- ・インターナル・コントロールの評価
- ・陽性コントロールの評価
- ・陰性コントロールの評価
- ・陽性反応の細胞内局在性の評価
- ・染色性管理簿などの作成・記入
- ・病理医との染色性に関するカンファレンスの実施

その他

- ・自動免疫染色装置のメンテナンス記録の保管
- ・外部精度管理調査(本調査以外)への参加

内部精度管理についてのアンケート

内部精度管理 該当項目数



内部精度管理についてのアンケート

- プレアナリシス段階の管理を行っている施設は少ない
- 染色条件の検討や染色性のチェックを全く行っていない施設あり

内部精度管理についてのアンケート

- 内部精度管理の実施状況や意識の差が施設により異なる
- 染色の自動化やコンパニオン診断の普及などにより精度管理の重要性は増大している

精度管理は病理検査技師として不可欠な業務である

コントロールについて

陽性コントロールの運用方法について

インターナル・コントロールのみを使用	6(25.0%)
全ての抗体において専用コントロール切片を使用	4(16.7%)
抗体によってインターナル・コントロール または専用切片を使用	14(58.3%)

コントロールの使用方法は各施設の現状に合わせて行われている

◎理想のコントロール：

検体と同一標本上に外部コントロールを置く

病理検査部門 今後の調査に向けて

精度管理調査終了後の対応として今後要求したいこと

各施設ごとの評価判定結果の作成	10(41.7%)
精度管理委員からの染色性や染色方法への助言	16(66.7%)
低評価項目の二次サーベイの実施	9(37.5%)
特になし	4(16.7%)

⇒県技師会 病理・細胞部門とも協調し、
フォローアップ体制を強化していく