

病 理

I. 目的

今年度は膵神経内分泌腫瘍に対して抗Chromogranin A抗体を用いた免疫組織化学染色の精度管理調査を行った。

Chromogranin Aは神経内分泌タンパクの一種で、神経細胞および内分泌細胞の分泌小胞に局在しており、免疫組織化学染色においては細胞質に顆粒状の陽性像を呈し、神経内分泌マーカーとして使用されている。また、神経内分泌腫瘍においてはSynaptophysinなどの神経内分泌マーカーと併用することで診断に重要な役割を果たしており、適切な染色が求められている。

各施設で日常行っている染色法を把握した上で評価および検討し、結果をフィードバックすることでさらなる染色技術向上に役立てたいと考える。

II. 参加施設数

申込み施設数	回答施設数	回収率
22 施設	19 施設	86%

※不参加理由

- ・自施設で Chromogranin A の免疫染色を行っていないため（2 施設）
- ・案内に記載されている染色項目を確認せず、一括で申し込んだため（1 施設）

III. サーベイ対象項目および試料

対 象 項 目：抗 Chromogranin A 抗体を用いた免疫組織化学染色

配 布 試 料：膵神経内分泌腫瘍手術症例の未染標本 3 枚（コーティングガラス）

免疫組織化学染色用（白）2 枚、H E 染色用（ピンク）1 枚

10%中性緩衝ホルマリン固定パラフィン包埋組織、薄切の厚さ 3 μ m

IV. 評価について

【評価方法】

精度管理部門員 2 名および評価を委託した病理技師(評価員)6 名、宮城県内に勤務している病理医 2 名(計 10 名)が評価項目に対して評価基準に基づいた評価を行い、それらを総合評価した。

評価にあたり一次抗体メーカー3 社に推奨標本を作製していただき、これらを参考標本とし、各項目評価および総合評価には当部門で設けた評価基準を使用した。

また、今年度は新型コロナウイルス感染対策として従来の集会型評価会を避け、全施設の染色標本より Whole Slide Imaging (WSI)に変換した画像データを各評価員に配布して評価を行った。

【評価項目とそのポイント】

① 標本の状態

- ・組織上や組織周囲への外来物の混入、染色時のコンタミ等（切片の状態は評価しない）

② 免疫組織化学染色の評価

- ・染色性…腫瘍部およびランゲルハンス島の染色性、非特異反応の有無と診断への影響を評価
- ・標本の見やすさ…核染色、コントラストと診断への影響を評価

V. 参加状況〔報告書番号、染色方法、使用抗体など〕（資料①、②参照）

《染色方法》

- ・自動染色装置（一部、全工程）… 18 施設
- ・用手法 … 1 施設

《染色装置メーカー》

- ・ロシュ社 … 10 施設
- ・ニチレイ社 … 6 施設
- ・アジレント社 … 1 施設
- ・ライカ社 … 1 施設

《一次抗体メーカー》

- ・ニチレイ社 … 9 施設
- ・ロシュ社 … 6 施設
- ・アジレント社 … 3 施設
- ・ライカ社 … 1 施設

VI. 評価結果および考察（資料③参照）

【評価結果】

総合評価	A	B	C	D
施設数	15	2	2	0

《評価基準》

- A：染色良好、診断に影響なし
- B：診断に影響はないが、改善の余地あり
- C：診断に支障をきたす可能性があるため、改善が必要である
- D：染色不良、診断に用いてはならない

1、標本の状態

- ラベルの貼付 …… すべての施設で良好
- ガラスの破損 …… すべての施設で良好
- 外来物の混入 …… すべての施設で良好
- 気泡の有無や封入剤のはみ出し …… すべての施設で良好

2、免疫組織化学染色の評価

施設間による染色性に差を認めたが、大部分の施設で総合評価B判定以上となり、概ね良好な結果が得られた。しかしながら 2 施設においては診断に支障をきたす可能性があるため改善が必要であると判断された。

【考察】

〈標本の状態について〉

組織上や組織周囲への外来物の混入、色素片の沈着、スライドガラス破損の有無等を評価対象とした。Whole Slide Imaging (WSI) を使用しているため標本全体ではなく組織周囲までの評価となるが、すべての施設において外来物の混入等は認められなかった。また、スライドガラスの破損や封入剤のはみ出し等もみられなかったため、Whole Slide Imaging (WSI) への変換も容易に行うことができた。

〈腫瘍部および非腫瘍部の染色性について〉

腫瘍部およびランゲルハンス島の染色性、非特異反応の有無をそれぞれ評価した。すべての施設において非特異反応は認められなかったが、腫瘍部およびランゲルハンス島の染色性は様々であった。なかでも腫瘍部の染色性が弱い施設では評価が低くなる傾向があり、総合評価 B と判定された施設(報告書番号 35、50)はいずれも腫瘍部の染色性が参考標本と比較してやや劣り、診断には影響がないものの改善の余地があると考えられた。また、総合評価 C と判定された施設では腫瘍部またはランゲルハンス島の染色性が参考標本と比較して著しく劣っており、ランゲルハンス島において特に染色性が弱く陽性コントロールとしての評価が困難であった施設(報告書番号 57)や全体的に染色性が弱く腫瘍部に染色不良や染色ムラがみられた施設(報告書番号 115)がこれに該当した。病理医の意向等もあると思われるが、臨床において転院やセカンドオピニオンなどに伴って標本の再評価を行う際には総合評価 C と判定された 2 施設では診断に影響を与える可能性があるため、再染色を依頼し、染色性の見直しを行いたい。

〈標本の見やすさについて〉

核染色やコントラストについて評価を行った。すべての施設において診断に影響を与えるような問題点は認められなかったが、評価 A でも核染色がやや弱い施設もあり、今後開催を予定しているフォローアップ研修会等を活用してプロトコルの見直し等を行うことが望ましいと考えられた。

【判定問題】(評価対象)

《設問》 染色標本中の腫瘍部に神経内分泌腫瘍が認められるか

《正解》 認められる (正解率：100%)

VII. 総評

今年度は膵神経内分泌腫瘍手術症例に対する抗 Chromogranin A 抗体を用いた免疫組織化学染色の評価を行った。対象症例は正常膵組織の中に線維性結合組織で囲まれた結節系の腫瘤を認める神経内分泌腫瘍症例であり、Chromogranin A 以外にも神経内分泌マーカーとして Synaptophysin や S-100 が陽性で、最終的に Neuroendocrine tumor (NET), G1 と診断された。本調査では腫瘍部と正常膵組織(陽性コントロール)を一部切り出し、精度管理標本として各施設に配布した。神経内分泌腫瘍の診断において Chromogranin A 単独で診断に用いることは少なく複数の神経内分泌マーカーを組み合わせることが一般的であるが、適切な染色は組織型の鑑別等に重要な役割を果たしている。

本調査には宮城県内の病理部門を有する 19 施設が参加し、回収率は 86%であった。今後、回収率 100%を目指し、染色項目の周知方法を工夫するとともに参加施設へは参加要綱の確認をお願いしたい。

複数の評価員により各施設の評価を行った結果、施設間で染色性に差を認めたものの、大部分の施設で総合評価 B 以上の結果となり、概ね良好な結果であった。しかし、各施設で診断を行う病理医の意向もあると思われるが、腫瘍部やランゲルハンス島の染色性が著しく弱い施設や染色性にムラのある施設が認められた。このような施設では生検検体として同様の検体が提出された場合等においては適切な診断が行えない可能性が考えられるため、染色プロトコルや試薬の確認・改善が望まれる。

また、今年度より新型コロナウイルス感染拡大を防止する観点から従来の集会型評価会を避け、Whole Slide Imaging (WSI) を用いた精度管理評価を導入した。病理医 2 名が染色標本との相関を確認したうえで評価員と画像データの共有・評価を行ったが、評価に影響を与えるような大きな問題は認められなかった。評価後に評価員より画像ファイルの容量や評価範囲、特殊染色時における評価員の端末間差等についての提言があったため、今後の課題としたい。

今回、検討が必要とされた点に関しては該当施設と共に検討を行い、精度管理部で企画するフォローアップ研修会で報告したいと考えている。精度管理報告会あるいはフォローアップ研修会において意見交換をはかり、県内における病理技術の向上に繋げることができれば幸いである。

最後に、この精度管理調査に多大なご尽力をいただきました評価員の諸先生方に感謝申し上げます。

VIII. 問い合わせ先

担当： 東北大学病院 病理部
小泉 照樹
TEL 022-717-7443(直通)

仙台徳洲会病院 検査科
土田 吉朗
TEL 022-372-1110(内線142)