

# 病 理

## I. 目的

免疫組織化学染色は試薬や工程、自動染色装置の機種など選択項目が多岐にわたり、施設間差が少なからず存在する。精度管理調査を通じて各施設で日常行っている染色法を把握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や標準化の推進に役立てたいと考える。

## II. 参加施設数

申込み	回答	回収率
18施設	17施設	94%

※不参加理由：抗 CEA 抗体を保有していなかったため（1 施設）

## III. サーベイ対象項目および試料

対象項目：抗 CEA 抗体を用いた免疫組織化学染色

配布試料：大腸癌手術症例の腫瘍部と非腫瘍部、別症例の正常肝組織の未染色標本

10%中性緩衝ホルマリン固定、パラフィン包埋(FFPE)

（株）サクラファインテックジャパン「スマートセクション（自動薄切装置）」にて薄切

免疫組織化学染色用                      厚さ 3μm（コーティングガラス 白）                      2 枚

HE 染色用（評価対象外）                      厚さ 3μm（ノンコーティングガラス 青）                      1 枚

## 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 5 名、宮城県内に勤務している病理医 2 名の計 9 名の評価員が当部門で設けた評価基準で評価を行い、それらを集計して総合評価とした。

評価にあたり一次抗体メーカー4社に推奨条件での標本作製していただき、それを基準として染色性を評価した。

昨年までの 4 年間は新型コロナウイルス感染対策として集会型での評価会を避け、全施設の染色標本より Whole Slide Imaging(WSI)に変換した画像を作成し各評価員に配布して評価を行っていた。この WSI による評価では、色調の評価等の課題もあり、今年度からは標本を回覧する方式を採用した。なお、施設名等は例年同様に匿名化処理を行っている。

### 【評価項目とそのポイント】

#### 《標本の状態》

- ラベルの状態………… ラベルの無記入や誤記入
- ガラスの状態………… ガラスの破損や傷
- 切片の状態………… 切片の剥離や傷
- 封入剤の状態………… 封入剤のはみ出し・気泡
- 外来物の混入………… 染色時の外来物の混入

#### 《免疫組織化学染色の評価》

- 腫瘍部および正常部の染色性
- 非特異反応の有無
- 核染色やコントラストについて  
診断への影響を評価

## V. 参加状況〔報告書番号、染色方法、使用試薬など〕

(資料①、②参照)

### 【染色方法】

自動染色装置 .....	17 施設
(全工程 .....	13 施設)
(脱パラフィン以外 .....	2 施設)
(核染色以外 .....	2 施設)

### 【染色装置】

Roche.....	10 施設
(BenchMark ULTRA.....	8 施設)
(BenchMark ULTRA PLUS .....	2 施設)
ニチレイ .....	4 施設
(ヒストステイナー .....	3 施設)
(ヒストステイナーAT .....	1 施設)
Leica BOND MAX.....	2 施設
Agilent AUTOSTAINER LINK 48 .....	1 施設

### 【一次抗体】

ニチレイ .....	9 施設
(COL1 .....	7 施設)
(ポリクローナル抗体.....	2 施設)
Roche CEA31.....	5 施設
Agilent II -7 .....	2 施設
(希釈済み抗体 .....	1 施設)
(濃縮抗体.....	1 施設)
Leica COL-1 .....	1 施設

染色装置	一次抗体 (クローン)	検出系	施設数	
Roche BenchMark ULTRA PLUS	Roche CEA (CEA31)	Roche	2	
Roche VENTANA BenchMark ULTRA		VENTANA OptiViewユニバーサルキット	1	
		Roche	1	
			1	
		Dako CEA (II -7)	Roche	1
		ニチレイ CEA (ポリクローナル)	VENTANA UltraViewユニバーサルキット	2
		2		
ニチレイ ヒストステイナー	ニチレイ CEA (COL-1)	ニチレイ ヒストファインシンブルステインMAX-PO (MULTI)	3	
ニチレイ ヒストステイナーAT		ニチレイ ヒストファイン	1	
Leica BOND-MAX		Leica BOND Polymer Refine Detection	1	
	Leica CEA (COL-1)		1	
Agilent Autostainer Link48	Dako CEA (II -7)	Dako EnVision FLEX Package High PH	1	

## 【ヘマトキシリン】

Roche	9 施設
Leica	2 施設
Agilent	1 施設
自家製（カラッチ系）	4 施設
サクラファインテック（2 倍カラッチ）	1 施設

## VI. 評価結果（資料③、④参照）

総合評価	A	B	C	D
施設数	16	0	1	0

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

### 《標本の状態》

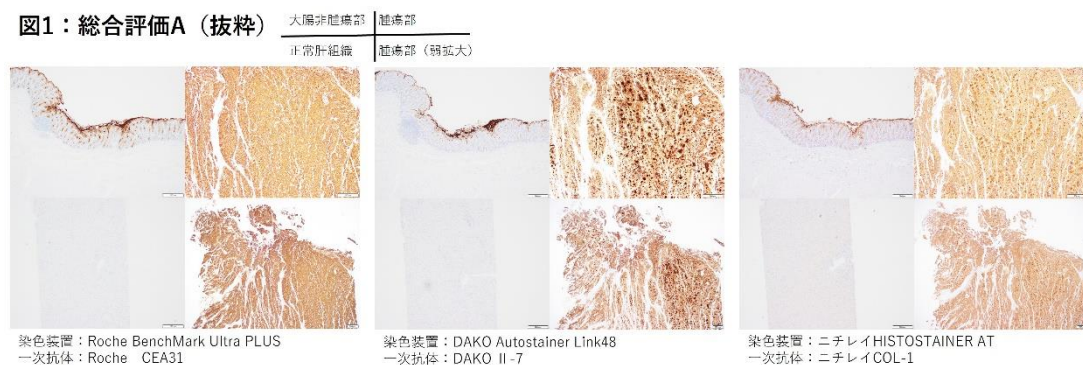
対象 17 施設の標本の状態を、「ラベルの状態」、「ガラスの状態」、「切片の状態」、「封入剤の状態」、「外来物の混入」の観点から評価した。一部の標本において、水滴跡のようなものが複数箇所見られたものの、診断に支障が出るような標本はなかった。いずれも良好な標本状態と判断した。

## 《免疫組織化学染色の評価》

### 腫瘍部および非腫瘍部の染色性について

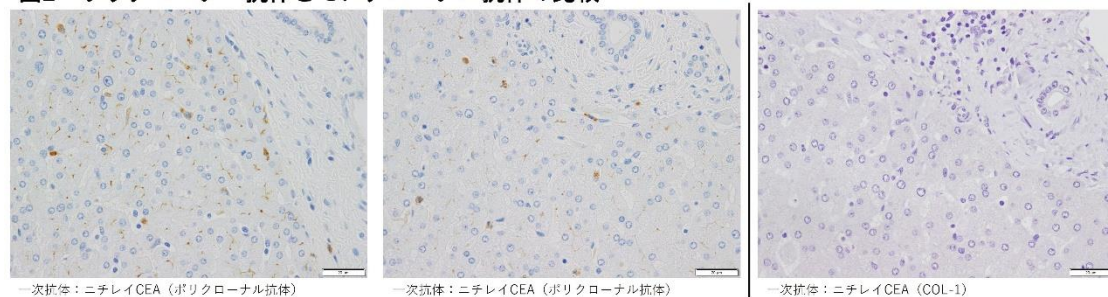
各施設で使用されている自動染色装置や抗体、検出試薬の組み合わせによって施設間での差異が見られた。腫瘍部における染色の不均一性が複数の施設で観察されたものの、診断に影響を与えるほどの不備は見られなかった。総合評価 A の標本においても、評価員やメーカー側からのアドバイスにより検出試薬や DAB の反応回数などの変更でさらに良好な標本を作ることができることが示唆された。今後開催を予定しているフォローアップ研修会等を活用してプロトコールや試薬の見直し等を行うことが望ましい。総合評価 A の一部を図 1 に示す。

図1：総合評価A（抜粋）



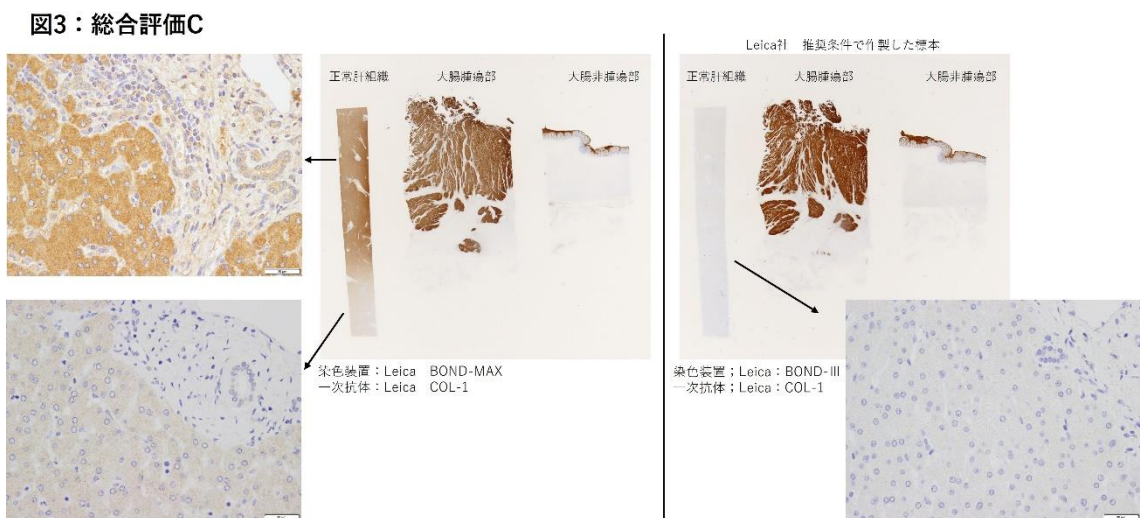
ポリクローナル抗体を使用している 2 施設（報告書番号 74, 114）においては腫瘍部や非腫瘍部の粘膜面以外に好中球や正常肝組織の毛細胆管などにも陽性像が見られたが、これは CEA と共通の epitope を有する非特異的交差反応抗原(NCA)、胆汁糖タンパク質(BGP) など複数の CEA 関連抗原が含まれているためであり、良好な染色であると判断した。正常肝組織におけるモノクローナル抗体との染色性の違いを図 2 に示す。

図2：ポリクローナル抗体とモノクローナル抗体の比較



## 非特異反応について

1 施設（報告書番号 97）では一次抗体にモノクローナル抗体を使用し、かつプロトコールがメーカー推奨条件とほぼ同条件であるにもかかわらず陰性コントロールである正常肝細胞に強い非特異反応が見られたため、総合評価がCとなった。図3に示す。その他の16施設では若干の血球・炎症細胞における非特異的陽性像などが見られたものの、診断に支障はないと判断された。



## 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。各施設の方針や病理診断医の選好もあり、施設間による差がある程度みられたものの、いずれも診断への影響はないと判断された。

## 【判定問題】（評価対象外）

《設問》今回の抗 CEA 抗体の免疫組織化学染色で、どちらに陽性部位が見られましたか？

正解 : 細胞膜・細胞質 (正解率: 100%)

## VII. 総評

今回は大腸原発腺癌の腫瘍部と非腫瘍部、正常肝臓の組織標本を用いて癌胎児性抗原 (carcinoembryonic antigen: CEA) の免疫組織化学評価を行った。

CEA は糖蛋白の一種で細胞接着に関連しており、1965 年 Gold らによりヒト大腸癌組織および胎児腸管に存在する癌特異抗原として報告された。CEA は正常大腸組織においては主に上皮細胞の管腔側に局在している。免疫組織化学的には腺癌に対する指標とされ、消化器癌領域では血清腫瘍マーカーとしても使用されている。一方、消化器癌に特異的なマーカーとは言えず、多くの癌組織で検出されることから、免疫組織化学での使用頻度は減少傾向にあると考えられる。しかしながら、悪性中皮腫と肺腺癌の鑑別など、現在でも多くの施設において使用されている抗体である。

染色パターンとして細胞膜で評価すると記載されることもあるが、実質的には細胞質にも陽性像が見られることが多い。特異的な反応性を担保するために、陽性・陰性コントロールには常に注意を払いたい。

本調査には宮城県内の病理部門を有する 18 施設が参加申し込みをし、1 施設がキャンセルとなり、回収率は 94%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、1 施設を除き総合評価 A の結果となり、概ね良好な結果であった。しかし、1 施設においては陰性コントロールとした肝組織で非特異反応が見られ、診断に影響を及ぼす可能性があり総合評価 C となった。対象施設においては試薬と機器の確認・改善が望まれるため、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、企業の皆様に感謝申し上げます。

## VIII. 問い合わせ先

担当：みやぎ県南中核病院 病理診断室 千崎 久美子  
0224-51-5500(内線 2604)  
仙台オープン病院 臨床検査室 井上 皓太  
022-252-1111(内線 3240)