

病理検査部門

精度管理事業部員：川島 佳晃
 (藤田医科大学病院 TEL:0562-93-2316)

I. はじめに

本年度は、病理検査における基礎的な手技や病理組織学の基礎的事項、日常業務に必要な知識を問うフォトサーベイを実施した。

II. 対象項目

1. フォトサーベイ(評価対象10問)

III. 参加施設数について

病理検査部門への参加は55施設であった。

IV. 評価基準

設問1～10について評価を設定した。

正解をA、不正解をDと設定し評価した。

| | | |
|------|-----|--------------------------|
| 評価 A | 正解 | 「基準」を満たし、極めて優れている |
| 評価 D | 不正解 | 「基準」から極めて大きく逸脱し、早急な改善が必要 |

V. 調査結果

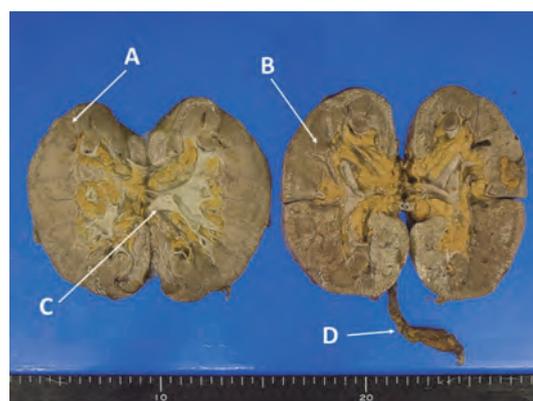
設問1～10の正解および正解率を示した。

| | 正解 | 正解率 |
|------|---------------------------------------|-------|
| 設問1 | ③(A-皮質)、(B-髓質)、(C-腎盂)、(D-尿管) | 94.5% |
| 設問2 | ④ 固定 → 脱水・脱脂 → 脱灰 → パラフィン浸透 → パラフィン包埋 | 87.3% |
| 設問3 | ④(A-甲状腺)、(B-腎臓)、(C-肺)、(D-脾臓)、(E-胃) | 96.4% |
| 設問4 | ④脱パラ不良 | 100% |
| 設問5 | ⑤ <i>Mycobacterium tuberculosis</i> | 100% |
| 設問6 | ④胸膜浸潤 | 81.8% |
| 設問7 | ②腺癌 | 94.5% |
| 設問8 | ②B | 87.3% |
| 設問9 | ②B | 96.4% |
| 設問10 | ④肋骨切断 | 100% |

VI. 解説および考察

【設問1】

固定後の臓器写真です。この臓器の部位の組み合わせで正しいものを選択して下さい。



- ① (A-腎杯)、(B-尿管)、(C-髓質)、(D-皮質)
- ② (A-髓質)、(B-腎盂)、(C-腎杯)、(D-尿管)
- ③ (A-皮質)、(B-髓質)、(C-腎盂)、(D-尿管)
- ④ (A-髓質)、(B-腎盂)、(C-尿管)、(D-皮質)
- ⑤ (A-皮質)、(B-髓質)、(C-腎杯)、(D-尿管)

| | 回答施設数 | 回答率 |
|------------------------------|-------|-------|
| ③(A-皮質)、(B-髓質)、(C-腎盂)、(D-尿管) | 52件 | 94.5% |
| ⑤(A-皮質)、(B-髓質)、(C-腎杯)、(D-尿管) | 3件 | 5.5% |

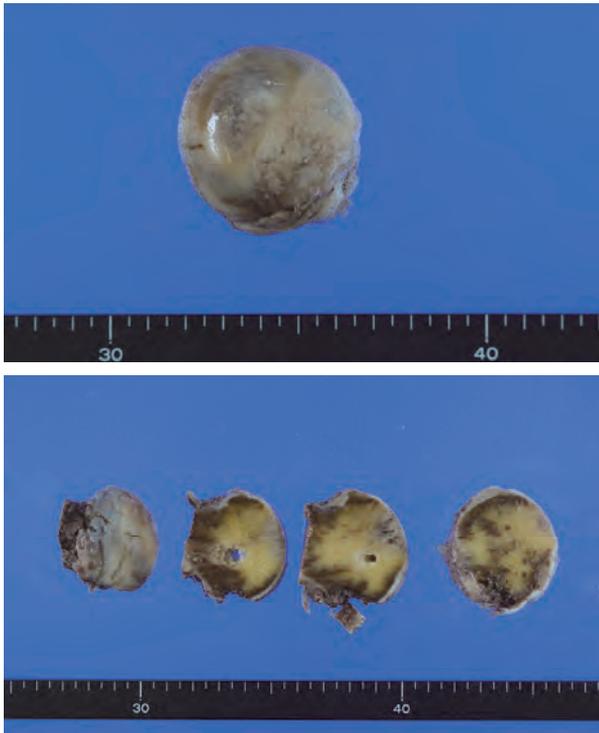
【正解】

- ③ (A-皮質)、(B-髓質)、(C-腎盂)、(D-尿管)

尿を産生する腎臓と、尿を体外に導く尿路(尿管、膀胱、尿道)をあわせて泌尿器系という。腎臓は左右1対の“そら豆”のような形をしている暗赤色の器官で、後腹膜腔に位置している。腎臓の表面は薄い結合組織の被膜で覆われ、その外は厚い脂肪組織で包まれている。腎臓の断面は皮質と髓質に分けられ、髓質は腎門を中心に放射状に並んだ腎錐体からなり、先端の腎乳頭は腎杯に取り囲まれている。腎杯は集まって腎盂を作り尿管につながっている。

【設問 2】

大腿骨頭の写真です。組織標本作製手順で適切なのはどれか選択してください。



断面写真

- ① 固定→脱灰→パラフィン包埋→脱水・脱脂→パラフィン浸透
- ② 脱水・脱脂→脱灰→固定→パラフィン浸透→パラフィン包埋
- ③ 固定→脱灰→脱水・脱脂→パラフィン浸透→パラフィン包埋
- ④ 固定→脱水・脱脂→脱灰→パラフィン浸透→パラフィン包埋
- ⑤ 脱灰→固定→脱水・脱脂→パラフィン浸透→パラフィン包埋

| | 回答施設数 | 回答率 |
|--------------------------------------|-------|-------|
| ③固定 → 脱灰 → 脱水・脱脂 → パラフィン浸透 → パラフィン包埋 | 7 件 | 12.7% |
| ④固定 → 脱水・脱脂 → 脱灰 → パラフィン浸透 → パラフィン包埋 | 48 件 | 87.3% |

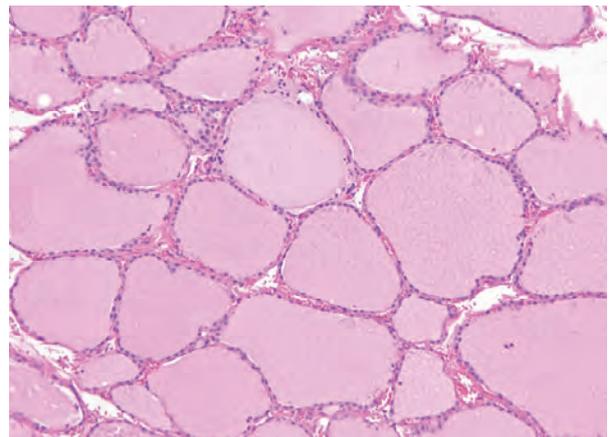
【正解】

- ④ 固定→脱水・脱脂→脱灰→パラフィン浸透→パラフィン包埋

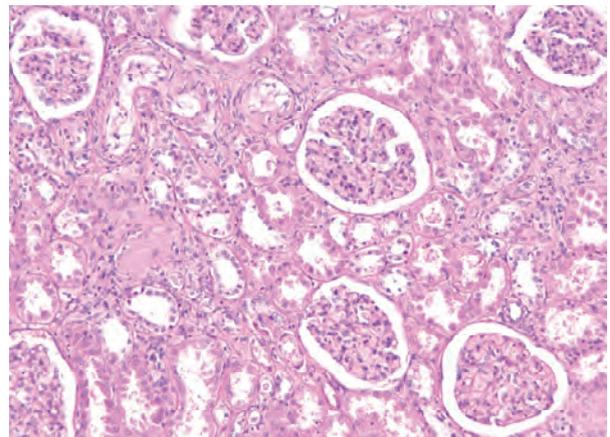
脱灰とは、骨などの硬組織や組織中の石灰化部分からカルシウムを除く操作である。脱灰液による組織障害を防ぐため、脱灰前にホルマリン固定を完了させておくことが重要である。固定が不十分な組織を脱灰すると、細胞形態の変化や染色性の低下を招く。また、組織を酸性脱灰液中で長時間反応させると、染色性に影響が生じるため、可能な限り短時間で脱灰を完了させる必要がある。そのため、組織は5 mm以下の厚さに切り出す必要があり、切り出しには糸鋸や電気鋸などを用いる。また、脂肪は脱灰液の浸透を妨げるため、脂肪を多く含む組織では脱灰不良を招くことがあり、脱脂を十分に行ってから脱灰操作に移る。

【設問 3】

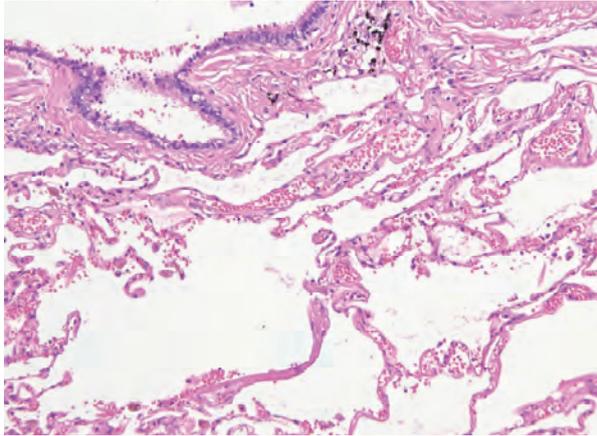
各臓器のH.E染色写真です。H.E染色像と臓器の組み合わせで正しいものを選択して下さい。



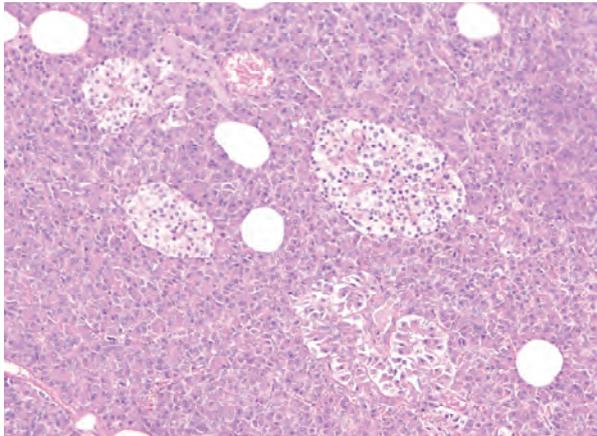
A



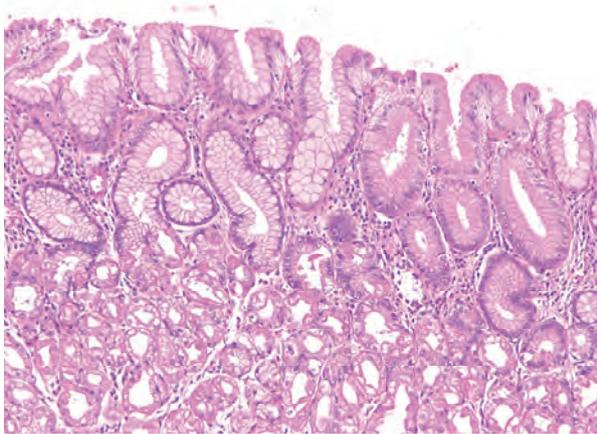
B



C



D



E

- ① (A-甲状腺)、(B-膵臓)、(C-肺)、(D-腎臓)、(E-大腸)
- ② (A-甲状腺)、(B-腎臓)、(C-肺)、(D-膵臓)、(E-大腸)
- ③ (A-肝臓)、(B-副腎)、(C-舌)、(D-唾液腺)、(E-十二指腸)
- ④ (A-甲状腺)、(B-腎臓)、(C-肺)、(D-膵臓)、(E-胃)
- ⑤ (A-脾臓)、(B-腎臓)、(C-卵巣)、(D-顎下腺)、(E-胃)

| | 回答施設数 | 回答率 |
|-------------------------------------|-------|-------|
| ②(A-甲状腺)、(B-腎臓)、(C-肺)、(D-膵臓)、(E-大腸) | 2件 | 3.6% |
| ④(A-甲状腺)、(B-腎臓)、(C-肺)、(D-膵臓)、(E-胃) | 53件 | 96.4% |

[正解]

- ④ (A-甲状腺)、(B-腎臓)、(C-肺)、(D-膵臓)、(E-胃)

Aは甲状腺の組織で、濾胞は円形から不整形を呈し、濾胞の内腔は単層立方上皮の濾胞上皮細胞で覆われる。濾胞内は、濾胞細胞が分泌するサイログロブリンを主成分としたコロイドで満たされている。濾胞内のコロイドはほぼ均一にピンク色に染まる。濾胞間や濾胞近傍には、カルシトニンを分泌する傍濾胞細胞が存在する。

Bは腎臓での組織で、皮質と髄質からなる。糸球体は、上皮細胞、基底膜、毛細血管内皮細胞および毛細血管を支持するメサンギウム細胞からなり、ここで血液の濾過が行われる。近位尿細管と遠位尿細管がみられ、近位尿細管の細胞質は好酸性、遠位尿細管の細胞質はやや淡明にみえる。

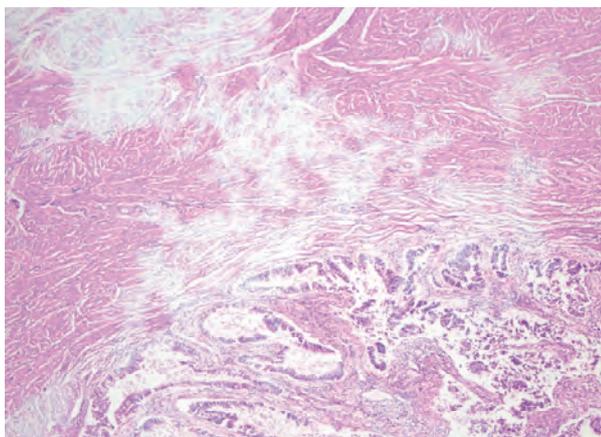
Cは肺の組織で、気管、気管支、終末細気管支は気道として換気に関与するが、呼吸細気管支、肺泡道、肺泡は、毛細血管を介してガス交換を行う。細気管支は、軟骨や気管支腺組織を欠き、内腔面は気管支と同様、単層円柱線毛上皮に覆われる。肺胞管になると円柱線毛上皮はなくなる。肺内の塵埃は、肺泡マクロファージによって処理される。

Dは膵臓の組織で、腺房細胞および膵管よりなる外分泌腺とランゲルハンス島よりなる内分泌腺が認められる。ランゲルハンス島の細胞は淡く染色される(弱好酸性の)細胞質と円形の核を有する。腺房細胞は、赤紫色の細胞質と、基底側に偏在する核を有する。細胞質内にはチモージェン顆粒を有する。

Eは胃の組織で、表層上皮細胞、胃底腺を認める。胃底腺は胃液を分泌する。主細胞はペプシノーゲンを分泌し薄紫色に染まり、壁細胞は塩酸を分泌するのでピンクに染まる。副細胞は表層上皮細胞とともに粘液を産生する。

【設問 4】

H.E染色写真です。このアーチファクトの原因はどれか選択して下さい。



- ① 気泡混入
- ② 過分別
- ③ 染色液の劣化
- ④ 脱パラ不良
- ⑤ コンタミ

| | 回答施設数 | 回答率 |
|--------|-------|------|
| ④脱パラ不良 | 55 件 | 100% |

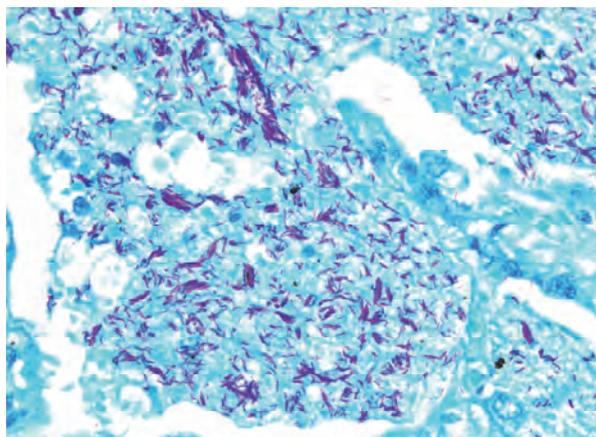
[正解]

- ④脱パラ不良

アーチファクトは、標本作製工程において生じる意図せぬ産物である。アーチファクトの発生は、標本の質を低下させるのみならず、時として病理診断の妨げとなる場合があるため、日々適切な標本作製に努めなければならない。今回のアーチファクトは、脱パラフィン不十分が原因であり、パラフィンの残った部位が染色液と反応せず染色ムラが生じ、不染部がみえる。パラフィン除去はキシレンの質、環境温度、切片の厚さや操作時間が影響する。未使用のキシレンは、パラフィン溶解能力が高く、脱パラフィンは短時間に終了するが、繰り返し使用することでキシレン槽のパラフィン濃度が高くなり、パラフィンの溶解能力が徐々に低下するため、定期的に液槽の交換をしなければならない。

【設問 5】

特殊染色の写真です。染色態度より検出目的として正しいものを選択して下さい。



- ① *Aspergillus fumigatus*
- ② *Cytomegalovirus*
- ③ *Pneumocystis jirovecii*
- ④ *Cryptococcus neoformans*
- ⑤ *Mycobacterium tuberculosis*

| | 回答施設数 | 回答率 |
|--|-------|------|
| ⑤ <i>Mycobacterium tuberculosis</i> | 55 件 | 100% |

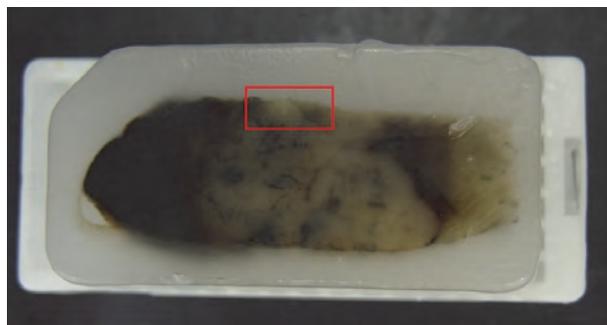
[正解]

- ⑤ *Mycobacterium tuberculosis*

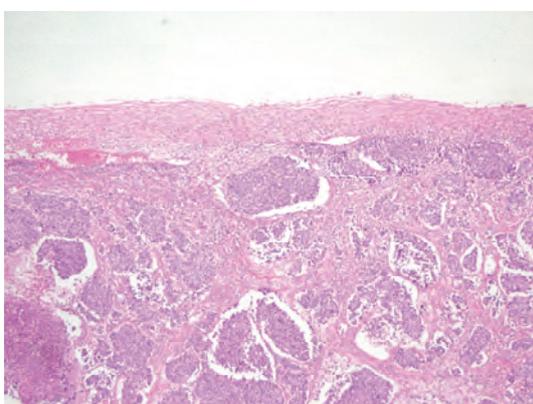
Ziehl-Neelsen染色は、組織内の抗酸菌、とくに結核菌や非結核性抗酸菌、ノカルジア症の証明に最も一般的に用いられる。抗酸菌の菌壁は、ミコール酸を主体とする複合糖脂質で覆われている。これにより、酸に抵抗性(抗酸性)をもち、水溶性の染色液では染色されない。親水性・親油性の性質を示す石炭酸を混合することによって、抗酸菌への色素の浸透を可能にしている。一度染色された菌は、抗酸性のため塩酸アルコールでは脱色されにくく、同時に染色された組織成分は塩酸アルコールにより脱色されるため菌体が浮かびあがる。Ziehl-Neelsen染色は、この抗酸性を利用した染色法である。染色は陽性対照標本とともに行うのが望ましい。

【設問 6】

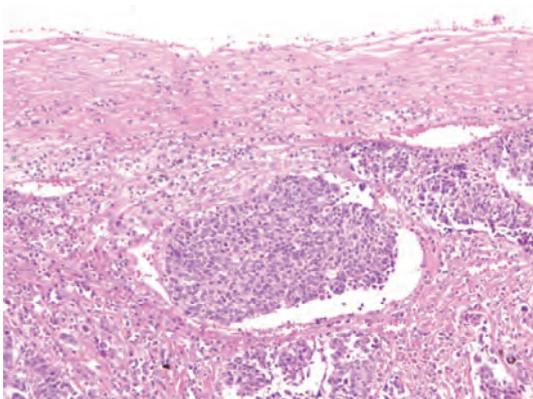
肺腫瘍組織のブロックおよび染色写真です。赤実線枠で囲われた部位は何を反映しているか選択してください。
(A：パラフィンブロック、B・C：H.E染色、
D・E：EVG染色)



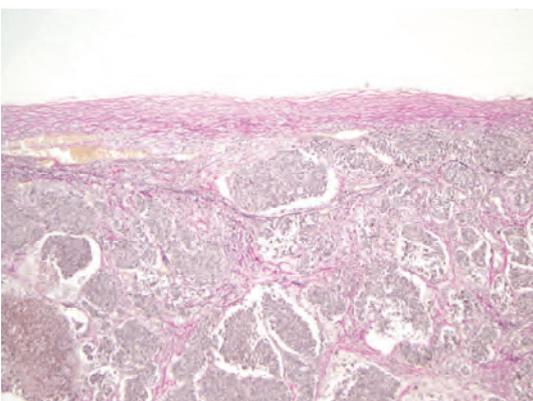
A：パラフィンブロック



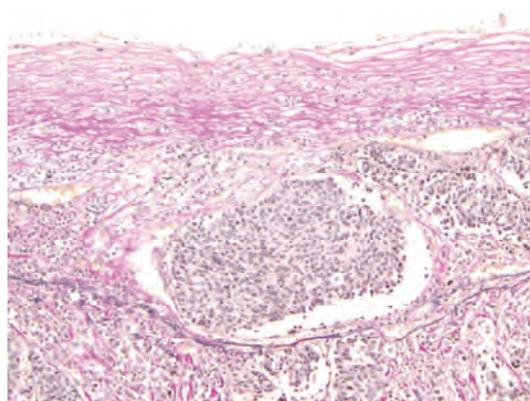
B：H.E染色



C：H.E染色



D：EVG染色



E：EVG染色

- ① 弾性線維の増生 ② 膠原線維の増生
- ③ 細網線維の増生 ④ 胸膜浸潤
- ⑤ 脈管侵襲

| | 回答施設数 | 回答率 |
|-------|-------|-------|
| ④胸膜浸潤 | 45 件 | 81.8% |
| ⑤脈管侵襲 | 10 件 | 18.2% |

[正解]

- ④ 胸膜浸潤

写真は右肺上葉組織材料で、腫瘍は壊死を伴い大型核異型細胞が充実性胞巣状に密に増殖している。腫瘍浸潤が胸膜外弾力膜を越えているか否かがH.E染色で明らかでない場合には、弾性線維染色を行うことが推奨されている。写真はエラスチカ・ワンギーソンの染色写真で、弾力膜は黒紫色に染色されている。本症例は、癌組織が組織学的に臓側胸膜外弾力膜を越えているが、臓側胸膜表面に達しておらず、p11であった。

p10：癌組織が組織学的に臓側胸膜外弾力膜を越えていない。

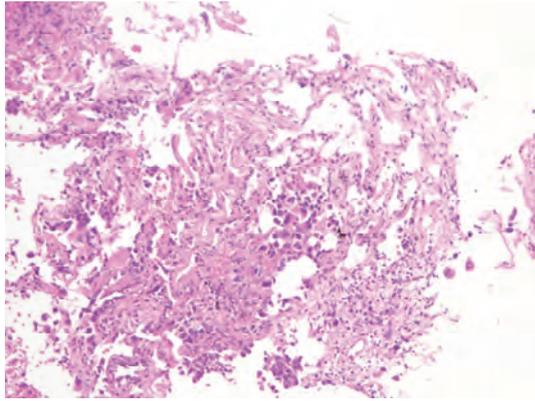
p11：癌組織が組織学的に臓側胸膜外弾力膜を越えているが、臓側胸膜表面に達していない。

p12：癌組織が組織学的に臓側胸膜表面に明らかに露出している。

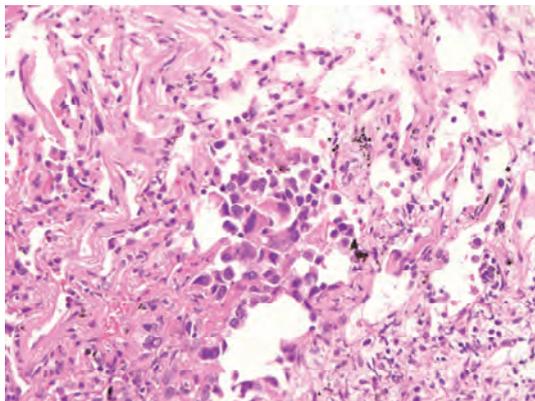
p13：癌組織が組織学的にさらに胸壁、横隔膜、縦隔臓器あるいは葉間を越えて隣接肺葉に及んでいる。

【設問7】

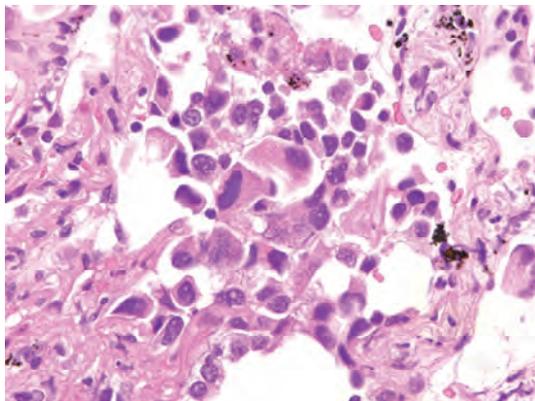
肺の生検写真です。考えられる病型を選択して下さい。



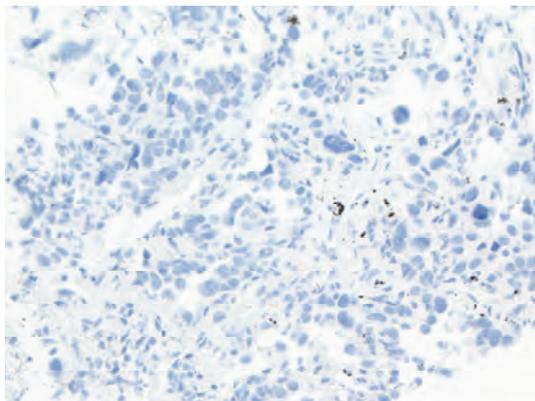
H. E 倍率×100



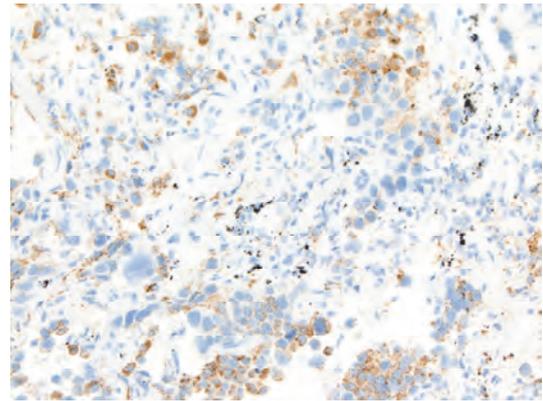
H. E 倍率×200



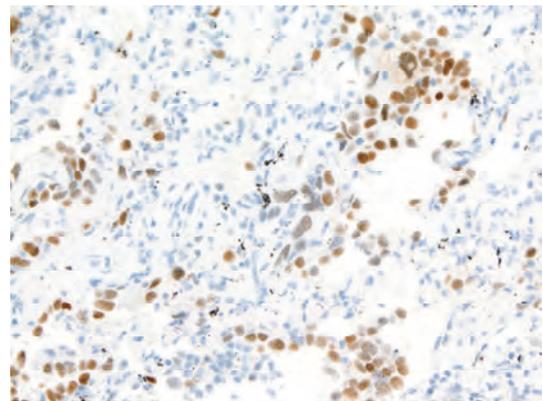
H. E 倍率×400



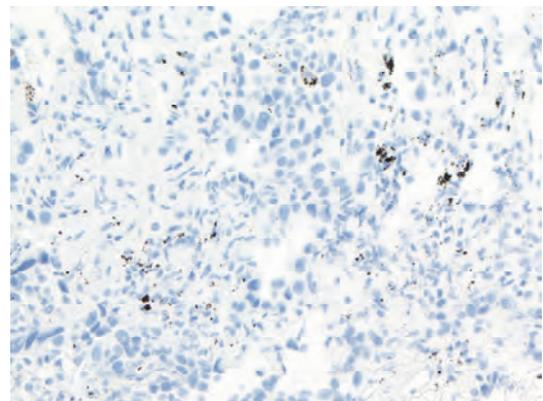
CK5/6



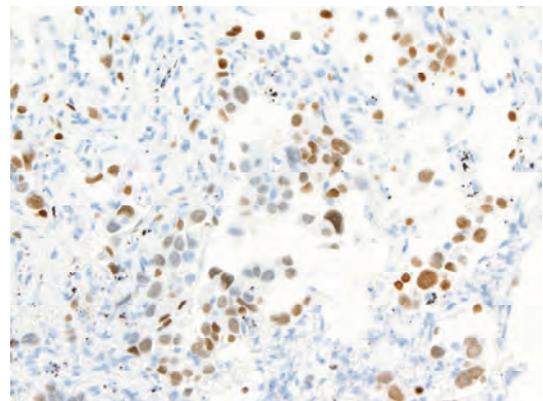
Napsin A



p53



p40



TTF-1

- ① 扁平上皮癌 ② 腺癌 ③ 小細胞癌
④ 悪性リンパ腫 ⑤ 非小細胞癌

| | 回答施設数 | 回答率 |
|--------|-------|-------|
| ②腺癌 | 52 件 | 94.5% |
| ⑤非小細胞癌 | 3 件 | 5.5% |

[正解]

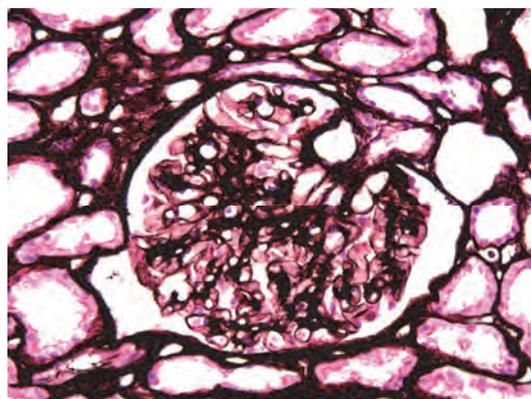
② 腺癌

写真は経気管支肺生検材料である。H.E染色低倍率では、肺胞上皮を置換して異型細胞が増殖している部分を認める。H.E染色高倍率では、偏在核で、核形不整、クロマチン増量、核小体の肥大を伴う異型上皮細胞を確認することができる。同細胞は免疫染色で、抗TTF-1抗体(+)、抗Napsin A抗体(+)、抗p53抗体(+)、抗p40抗体(-)、抗CK5/6抗体(-)であり、肺腺癌と診断することができる。

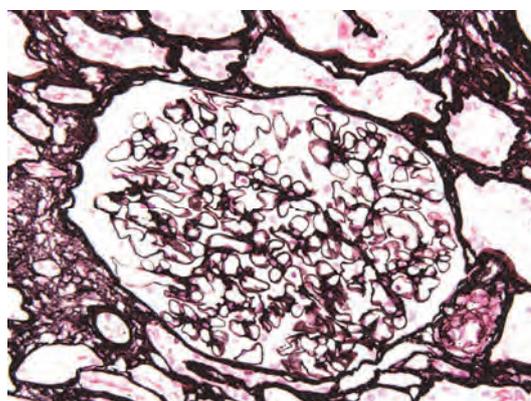
抗TTF-1抗体は甲状腺および末梢肺において上皮細胞の核に発現する核転写蛋白であり、肺原発の腫瘍であることの確認に用いられ、腺癌の80%程度で陽性となる。抗Napsin A抗体は細胞質に陽性となり、ペプチターゼA1ファミリーに属するペプシン様アスパラギン酸プロテアーゼで、肺サーファクタントBの成熟に参与している。肺では、II型肺胞上皮および肺胞腔内マクロファージに発現する。抗p40抗体は核に陽性となり、扁平上皮、尿路上皮、乳腺・唾腺液(筋上皮細胞)などで陽性となる。近年、非小細胞肺癌においては治療選択の観点から、扁平上皮癌か非小細胞癌かの判定が重要視され、抗p40抗体は優れた扁平上皮癌マーカーとして注目されている。抗CK5/6抗体は細胞質が陽性で、CK5は重層上皮、移行上皮、混合腺、中皮細胞に発現する分子量58kDの塩基性サイトケラチンで、CK6は増殖期の扁平上皮細胞に発現する分子量56kDの塩基性サイトケラチンである。抗CK5/6抗体は、腺癌細胞は陰性であることから、低分化型扁平上皮癌と腺癌、上皮型中皮腫と肺腺癌の鑑別に有用である。抗p53抗体はp53遺伝子変異によって発現した異常p53蛋白の蓄積を免疫組織学的に同定することが可能で、良悪性の判断材料の補助として用いられる。核に陽性となり、H.E染色との対比が重要である。

【設問 8】

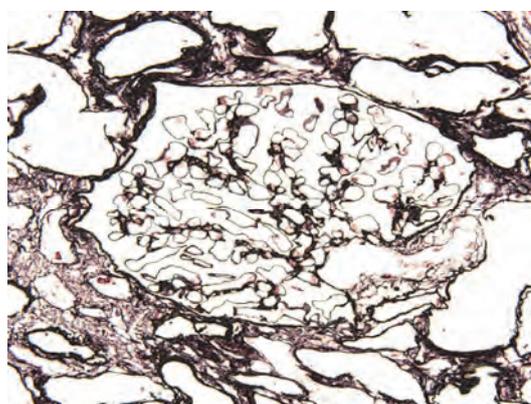
膜性腎症のPAM染色写真です。最も適した染色像はどれか選択してください。



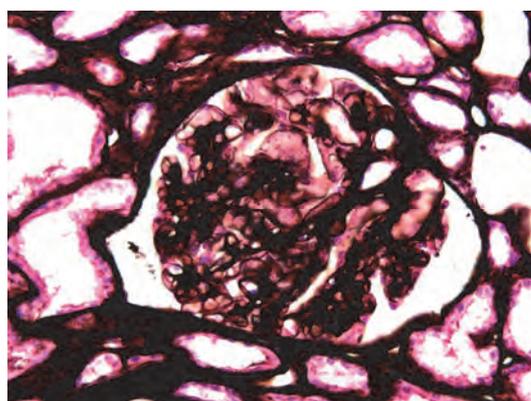
A



B



C



D

- ① A ② B ③ C
 ④ D ⑤ A～Dのすべて

| | 回答施設数 | 回答率 |
|-----|-------|-------|
| ① A | 2件 | 3.6% |
| ② B | 48件 | 87.3% |
| ③ C | 5件 | 9.1% |

[正解]

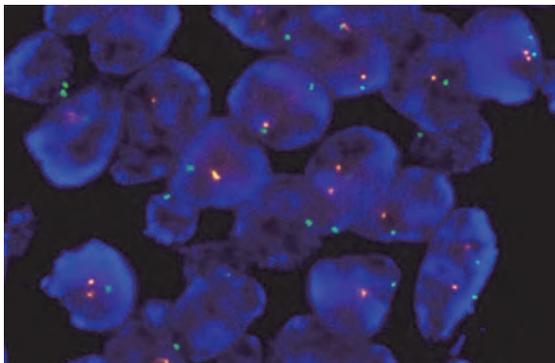
- ② B

腎疾患におけるPAM染色は、H.E染色の補助的な特殊染色として糸球体基底膜、メサンギウム基質、スパイク病変、血管病変などの変化が明瞭に染色され、基底膜の二重化やスパイク形成などの観察が容易である。

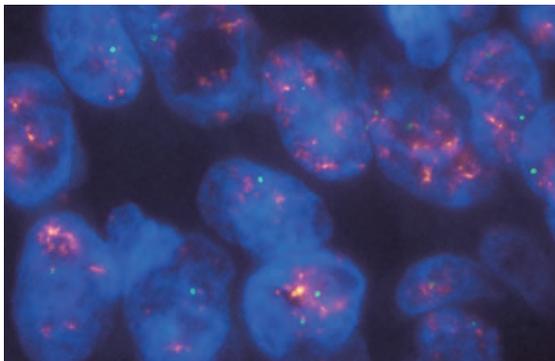
PAM染色の精度管理で重要な因子は2μm以下の薄い切片と、メセナミン銀の鍍銀である。厚い切片や過剰な鍍銀、鍍銀不足では糸球体基底膜の状態や沈着物の有無、メサンギウム基質の状態などが観察できないので注意する。

【設問9】

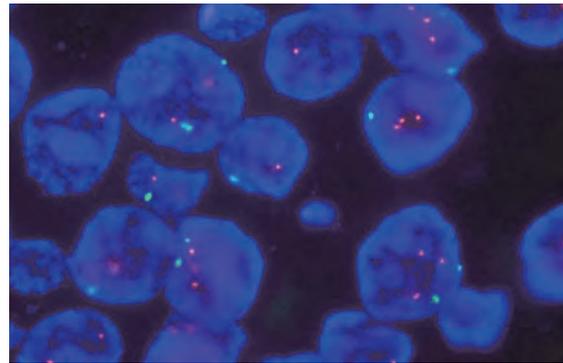
乳癌HER2遺伝子(FISH法)の写真です。「HER2遺伝子増幅あり」と判定するのはどれか選択して下さい。
 (HER2シグナル：赤、CEP17シグナル：緑)



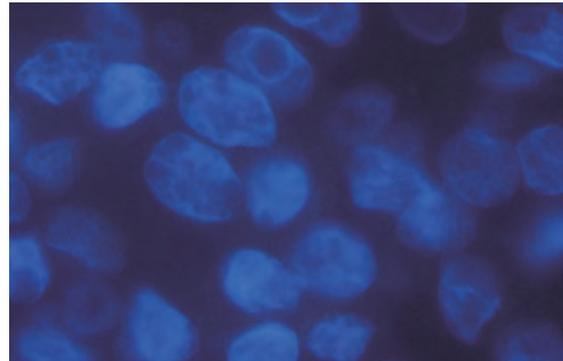
A



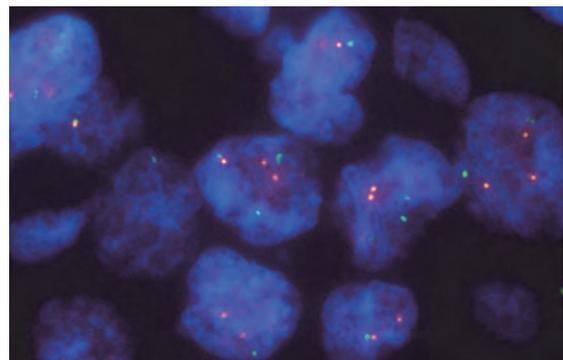
B



C



D



E

- ① A ② B ③ C
 ④ D ⑤ E

| | 回答施設数 | 回答率 |
|-----|-------|-------|
| ② B | 53件 | 96.4% |
| ③ C | 2件 | 3.6% |

[正解] ② B

FISH法はHER2遺伝子(DNA)増幅の検出法である。ホルマリン固定パラフィン包埋組織切片上で、標識したHER2 DNAプローブを用いて癌細胞の間期核におけるHER2遺伝子のコピー数を検出する方法である。

20個の癌細胞からHER2、CEP17の各々のシグナル数を蛍光顕微鏡で計測し、さらに癌細胞20個のCEP17

シグナル総数に対するHER2シグナル総数の比率を算出する。HER2/CEP17比が2.0以上、または2.0未満かつHER2遺伝子コピー数の平均が1細胞あたり6.0以上を増幅陽性、HER2/CEP17比が2.0未満かつHER2遺伝子コピー数の平均が1細胞あたり4.0~6.0未満をequivocal、HER2/CEP17比が2.0未満かつHER2遺伝子コピー数の平均が1細胞あたり4.0未満を増幅陰性と定義する。

Equivocalと判定された場合は、リフレックステスト(同じ検体でIHC法を用いる)、代替えCh17プローブを用いたISH法、または新たな検査(IHCまたはISH法を用いて可能なら新たな検体で)を実施しなければならない。浸潤部分の乳癌細胞の陽性所見のみを判定対象とし、非浸潤部分の癌細胞は判定対象から除外する。10%以上の癌細胞を含む異なる細胞集団が近接してスライド上にある場合には、その細胞集団についても20個以上の細胞でシグナル数を計測する。また、核の重なった部分での計測は避ける。

【設問10】

解剖に使用する器具の写真です。使用用途として適切なものを選択して下さい。



- ① 腸管切開 ② 皮膚切開 ③ 開頭
④ 肋骨切断 ⑤ 脊椎摘出

| | 回答施設数 | 回答率 |
|--------|-------|------|
| ④ 肋骨切断 | 55 件 | 100% |

[正解]

- ④ 肋骨切断

写真は肋骨剪刃で、肋骨を切断する際に用いる。胸腔の開放には、胸骨と肋軟骨を一塊にして取り出す。肋骨と肋軟骨の境界部を確認し、これよりわずかに内側より各肋間筋に解剖刀を入れて胸腔内に通じる孔をあけていく。その穴に肋骨剪刃を入れ、第2肋骨から第12肋骨に向かって順番に肋軟骨の最外側部分を切離する。第1肋骨をはじめに切らない理由は、その後面にある血管(内胸動静脈、鎖骨下動静脈)を傷つけることによって、

人工的に胸水を血性にしてしまうことを避けるためである。また、肋軟骨部分で切断する理由は、肋骨部分で切離すると、その断端の骨が剖検者の手袋等を傷つける可能性があること、また骨髓から流出する血液が胸水に混入する可能性があるからである。第2肋骨から第12肋骨まで切離したら、胸骨と肋軟骨の下端(肋間弓)を持ち上げ、横隔膜の肋骨弓付着部を切開していく。次に胸骨後面と心嚢前方との間の結合組織を切り離していくと胸腔が見えてくる。第2肋骨まで切り離して持ち上げた段階で、両側の胸水を汲みだして性状の観察と量の測定を行う。次に上肢を上下させて胸鎖関節の位置を確認してから、ナイフを直角に立てて関節包に沿って弧を描くように胸鎖関節を完全に切り離す。最後に第1肋骨を肋骨剪刃で切断して、遺体から胸骨と肋軟骨を完全に切り離す。

VII. まとめ

今回の精度管理調査では、病理検査における基礎的な手技や病理組織学の基礎的事項、日常業務に必要な知識を問うフォトサーベイを実施した。すべての設問における正解率は80%以上となり評価対象であった(設問4、5、10は正解率100%)。

病理検査では染色方法や検査技量で個人や施設間で差が生じ、染色性においては主観も加わるため標準化が難しい。フォトサーベイでは一般病院や検査センターで日常的に遭遇する症例を中心にH.E染色、特殊染色、免疫組織化学染色などに関する問題を出題することができるため、自施設で実施している染色態度や検体取り扱い方法などが病理検査の技術的な基準を満たしているかどうかや鑑別疾患に対する基礎知識を有しているかを評価することができる。

今後、染色サーベイは倫理的制約などで実施することがより難しくなるため、病理検査の基礎的内容だけでなく病理技術を含むフォトサーベイの設問作成を行う必要性がある。

VIII. 実務担当者

- 橋本 克訓(名古屋大学大学院医学系研究科)
○鈴木 健太郎(総合大雄会病院)

IX. 参考文献

1. 牛木辰男:入門組織学, 南江堂
2. 藤田恒夫:入門人体解剖学改訂第4版, 南江堂
3. 病理技術教本 改訂第2版, 日本臨床検査同学院
4. JAMT技術教本シリーズ 病理検査技術教本, 丸善出版
5. 下正宗:正常画像と比べてわかる病理アトラス, 羊土社
6. 坂本穆彦:組織病理カラーアトラス, 医学書院
7. 病理組織技術エキスパート教本, 日本臨床検査同学院
8. 三浦妙太・畠山重春:実践病理組織細胞診染色法カ

ラー図鑑〈第三版〉，近代出版

9. 最新染色法のすべて，医歯薬出版
10. 日本肺癌学会編：臨床・病理肺癌取扱い規約第8版，金原出版
11. 免疫組織データベース～いむーのAntibody Database, <http://immuno2.med.kobe-u.ac.jp/>
12. 遠藤正之・仁科良・呉瓊：「Ⅱ. 検査データの見方 6. 腎生検病理標本のみかた」，日本内科学会雑誌第97巻 第5号
13. 乳がんHER2検査病理部会：HER2検査ガイド 乳癌編第4版，中外製薬株式会社，2014
14. 深山正久・船田信顕・黒田誠：病理解剖マニュアル，病理と臨床Vol.30臨時増刊号，文光堂