

病理検査部門

精度管理事業担当者：鈴木健太郎（社会医療法人大雄会 総合大雄会病院 技術検査科）

実務分担者：川島 佳晃（藤田医科大学病院 病理部）

松井 竜三（名古屋市立大学病院 臨床検査技術科）

橋本 克訓（修文大学 医療科学部 臨床検査学科）

吉本 尚子（公立西知多総合病院 臨床検査科）

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

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57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	①組織の変形が起こらないようにゴム板に虫ピン等で張り付ける。	100%
設問 2	③200～300g	96.5%
設問 3	④D	100%
設問 4	③面出し不足	100%
設問 5	③D2-40	94.7%
設問 6	③C	91.2%
設問 7	②Hodgkin's lymphoma	100%
設問 8	②組織 B のみが遺伝子変異解析に適している。	94.7%
設問 9	⑤採取臓器の取り違えの可能性があるので、依頼医に確認する。	96.5%
設問 10	①試薬 A のみが劇物である。	98.2%

VI. 解説および考察

【設問1】

固定前の手術材料の写真です。固定前に行う処置として最も適切なものを選択してください。



- ① 組織の変形が起こらないようにゴム板に虫ピン等で張り付ける。
- ② 速やかに固定が進むように1cm程度ずつ割を入れる。
- ③ 患者の同意の有無を問わず、腫瘍部と非腫瘍部から研究用サンプルを採取する。
- ④ 速やかに固定が進むようにシリンジ等を使用し、ホルマリンを注入する。
- ⑤ 速やかに固定が進むように先に切り出しを行う。

	回答施設数	回答率
① 組織の変形が起こらないようにゴム板に虫ピン等で張り付ける。	57 件	100%

【正解】

- ① 組織の変形が起こらないようにゴム板に虫ピン等で張り付ける。

固定の目的は、自家融解や細菌による腐敗を停止させること、および組織や細胞のタンパクを変化させて形態や物質を保存することである。

固定液には、10%中性緩衝ホルマリン液を使用することが推奨されている。また、形態を保持するために臓器ごとに適した固定方法があるため、十分に理解し適切な固定を行うことが重要である。

写真の臓器は胃である。胃の場合、原則として大弯側を切開し、開いた状態で粘膜面を上にして固定板上で引き伸ばし、その辺縁に虫ピンなどを用いて張り付ける。その後、10%中性緩衝ホルマリン液で固定することで、組織の収縮や歪みを抑え組織構造を保持することができる。

【設問2】

臓器の写真です。この臓器の正常の重さとして最も適切なものを選択してください。



- ① 50～100g
- ② 100～200g
- ③ 200～300g
- ④ 300～400g
- ⑤ 400～500g

	回答施設数	回答率
③ 200～300g	55 件	96.5%
④ 300～400g	2 件	3.5%

【正解】

- ③ 200～300g

写真の臓器は心臓である。心重量の正常値は、体重、身長、性別により異なるが、25～59歳では男性279.4±30g、女性262.5±30gと報告されている。心重量は増減をきたすことがあり、消耗性疾患の末期に起きる褐色萎縮では心重量が減少する。一方、心筋症や病的な心負荷状態では心重量の増大すなわち心肥大が起き、心重量が400g以上となる。心重量の測定では心腔内に凝血が多く付着していることがあるため、その場合には凝血を取り除いたのち測定する。

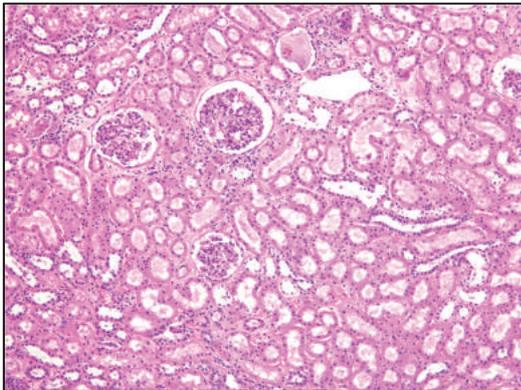
【設問3】

免疫染色に用いる抗TTF-1抗体の陽性コントロールとして最も適切なものを選択してください。

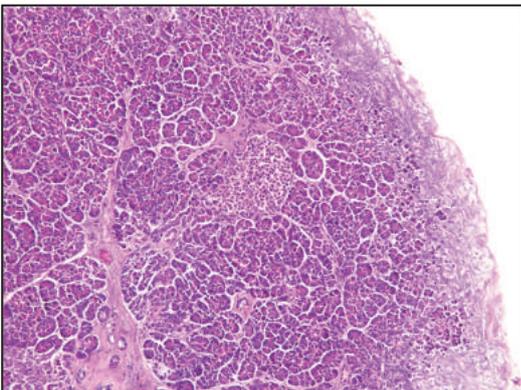
A 対物×10



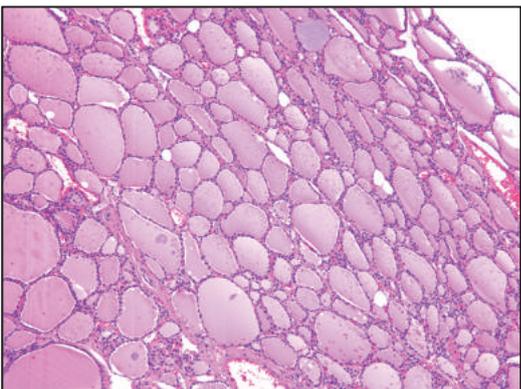
B 対物×10



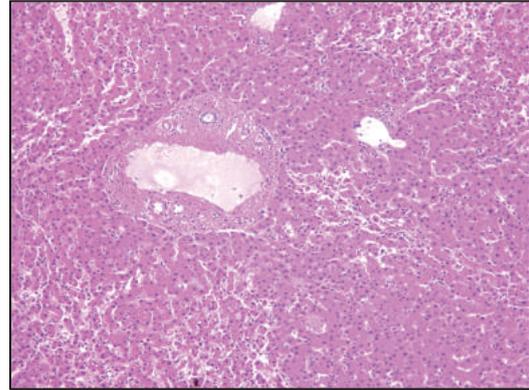
C 対物×10



D 対物×10



E 対物×10



- ① A
- ② B
- ③ C
- ④ D
- ⑤ E

	回答施設数	回答率
④ D	57件	100%

[正解]

④ D

TTF-1はThyroglobulin、甲状腺ペルオキシダーゼ、TSH受容体、Na/Iシンポーターといった甲状腺に特異的なタンパクをコードする遺伝子のプロモーターに結合し、その転写を促進する核内タンパクである。正常組織では、甲状腺濾胞上皮細胞のほか、C細胞、Ⅱ型肺胞上皮細胞などの核に陽性となる。したがって、陽性コントロールとして最も適した組織は写真Dの甲状腺である。またTTF-1は、肺原発腫瘍の鑑別に有用であり、陽性率として腺癌は80%程度、小細胞癌は90%程度、カルチノイドは50%以上、大細胞神経内分泌癌では50%程度である。

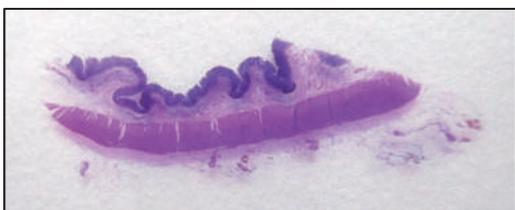
【設問4】

大腸のパラフィンプロックとH.E染色の写真です。不良標本となっている原因として最も適切なものを選択してください。

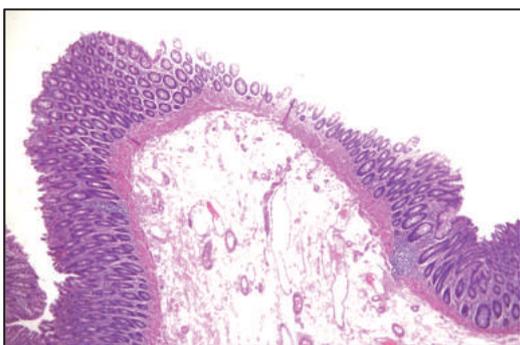
パラフィンプロック



H.E染色 ルーベ像



H.E染色 対物×4



- ① メスキズ
- ② チャター
- ③ 面出し不足
- ④ 薄切厚設定が厚い
- ⑤ 伸展不足

	回答施設数	回答率
③ 面出し不足	57 件	100%

[正解]

- ③ 面出し不足

アーチファクトは、標本作製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

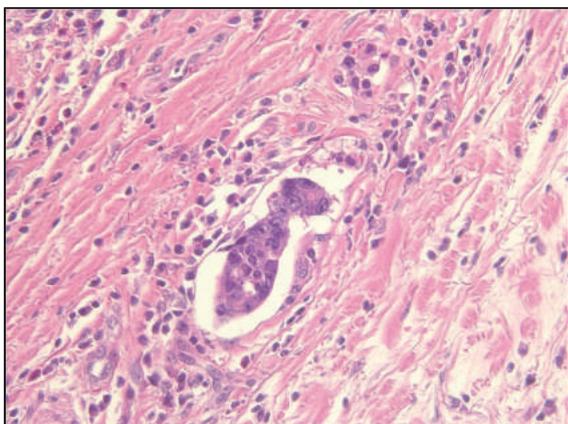
させるのみならず、時として病理診断の妨げとなる場合があるため、標本作製においては、その発生要因を正しく理解し、然るべき対策を講じながら日々の標本作製に努めなければならない。

H.E染色ルーベ像および対物4倍の写真では、粘膜上皮の一部が欠損しているが、パラフィンプロックの写真では粘膜上皮の欠損は認められないため、不良標本となった原因は面出し不足である。面出し不足は、粗削りの不足により組織の最大割面が出ていないか、過剰に組織が削られ欠損することで生じるアーチファクトである。対処法は、粗削りの際にブロック表面に光を当て、光の反射を利用して組織の最大割面が全て出ているか確認して慎重に面出しを行う。

【設問5】

大腸癌のH.E染色の写真です。組織像から免疫染色の追加検索に必要な抗体名を選択してください。

H.E染色 対物×40



- ① CD20
- ② CD56
- ③ D2-40
- ④ CDX2
- ⑤ CK20

	回答施設数	回答率
③ D2-40	54 件	94.7%
④ CDX2	2 件	3.5%
⑤ CK20	1 件	1.8%

【正解】

- ③ D2-40

H.E染色の写真から管腔内に腫瘍細胞が浸潤していることが確認できる。脈管侵襲が疑われた場合、特殊染色や免疫染色を行い、静脈あるいはリンパ管であるかを鑑別する必要がある。静脈侵襲の評価には、Victoria blue染色やelastica van Gieson染色などの弾性線維染色を用いる。リンパ管侵襲の鑑別には、D2-40を用いた免疫染色を用いる。尚、大腸癌取扱い規約では脈管侵襲の評価を行った場合、その旨を記載することとされている。

CDX2およびCK20は、大腸癌の症例に用いられる抗体である。しかし、設問文に「大腸癌のH.E染色の写真です。」と記載されていることから、すでに大腸癌と診断された症例であるため、管腔の鑑別に用いられるD2-40が正解となる。

本設問に用いた抗体について説明する。

CD20はB細胞の細胞膜に発現し、CD79aと併用

し、B-cell lymphomaの鑑別、Hodgkin's lymphomaのHodgkin細胞やReed-Sternberg細胞の陰性確認として用いられる。

CD56はNK細胞や形質細胞などの細胞膜に発現している。NK-cell lymphoma、一部のT-cell lymphoma、多発性骨髄腫、一部のAnaplastic large cell lymphoma、一部の骨髄性白血病、小細胞癌、神経内分泌性腫瘍の鑑別に用いられる。

D2-40はリンパ管内皮細胞の細胞膜に発現している。リンパ管内皮細胞のマーカーで、腫瘍のリンパ管侵襲の評価やセミノーマの鑑別、中皮腫のマーカーとして用いられる。

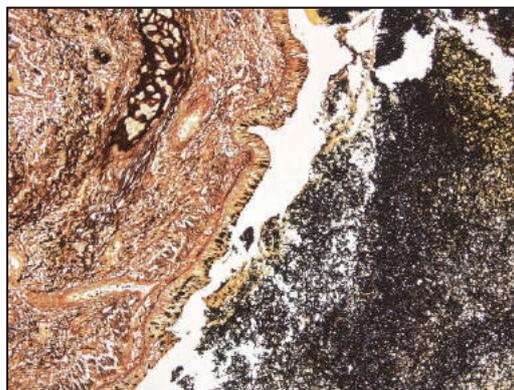
CDX2は十二指腸～直腸までの粘膜上皮細胞の核に発現している。消化管を原発とする腫瘍であることの証明、膵胆管や卵巣の粘液性腺癌の鑑別に用いられる。

CK20は腸管上皮細胞、胆管上皮細胞、尿路上皮細胞などの細胞質に発現している。大腸癌・直腸癌・膀胱癌・胆道系癌・卵巣粘液性癌・尿路上皮癌・Merkel細胞癌の鑑別やCK7との組み合わせによる原発巣の推定に用いられる。

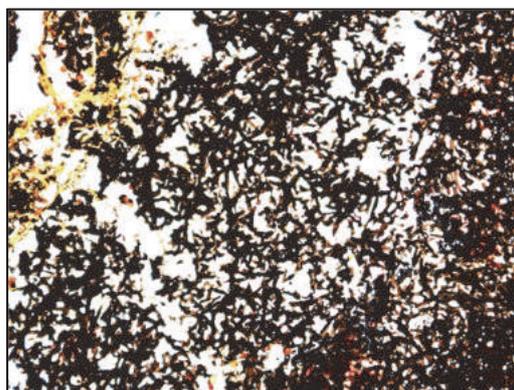
【設問6】

グロコット染色のメセナミン銀反応時の写真です。反応停止をするタイミングとして最も適切なものを選択してください。

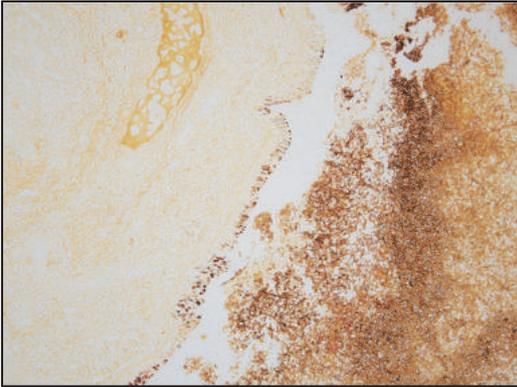
A 対物×10



A 対物×40



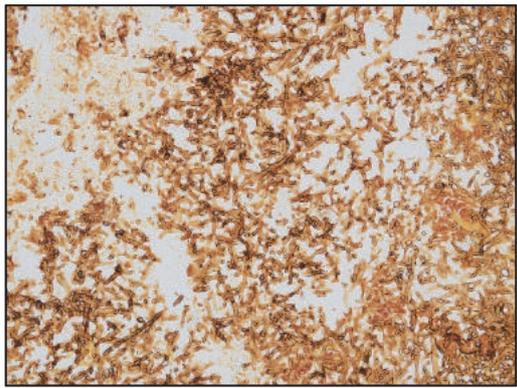
B 対物×10



D 対物×10



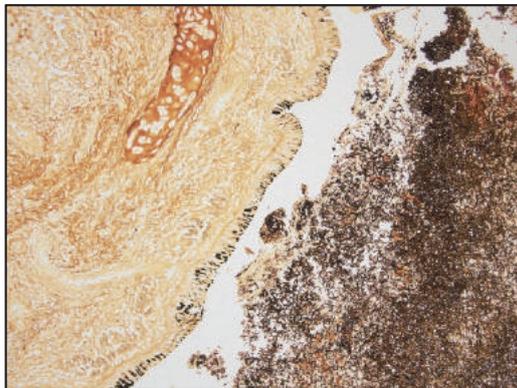
B 対物×40



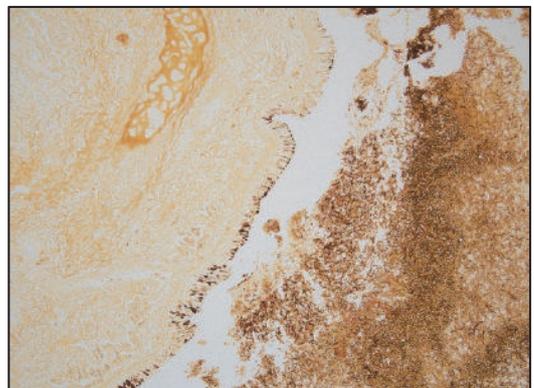
D 対物×40



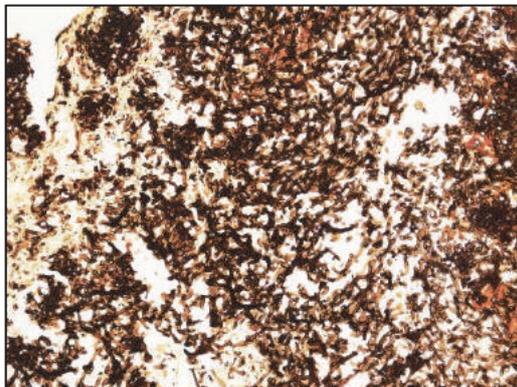
C 対物×10



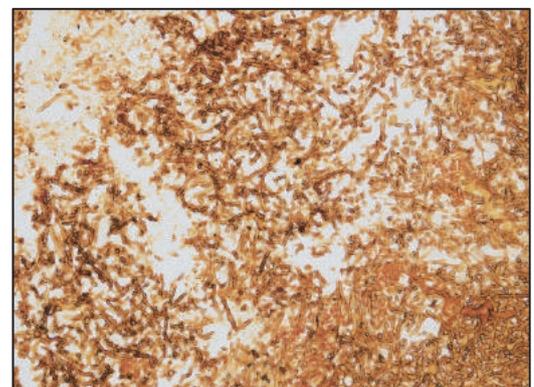
E 対物×10



C 対物×40



E 対物×40



- ① A
- ② B
- ③ C
- ④ D
- ⑤ E

	回答施設数	回答率
① A	2件	3.5%
② B	2件	3.5%
③ C	52件	91.2%
⑤ E	1件	1.8%

[正解]

③ C

グロコット染色の目的は様々な真菌（カンジダ、アスペルギルス、ムコール、ニューモシスチス・イロベチなど）、放線菌、ノカルジアの証明である。染色原理は、真菌の菌壁に含まれる糖類をクロム酸で酸化させ、生じたアルデヒド基にメセナミン銀を反応させることで真菌を検出する。

グロコット染色では、メセナミン銀液の反応時間が重要である。反応時間が長すぎても短すぎても染色不良標本となるため、必ず顕微鏡で染色度合いを確認しながら反応を停止させなければならない。反応時間が長すぎると、目的の菌壁のみならず背景までも染色（共染）され真菌を確認することが困難となる。一方、反応時間が短すぎると共染は起きないが、目的の菌壁も染まらない。真菌の菌壁が暗茶褐色調に染色された時点で反応を停止させることで、後染色のライトグリーンとのコントラストが良好になる。したがって、メセナミン銀液の反応停止のタイミングが最も適しているのは写真Cである。

写真Aは、メセナミン銀液の反応時間が長く菌壁のみならず背景までも暗茶褐色調に共染しているため、反応時間を短くしなければならない。

写真Bは、メセナミン銀液の反応時間が短いため、菌壁が淡染し不明瞭である。

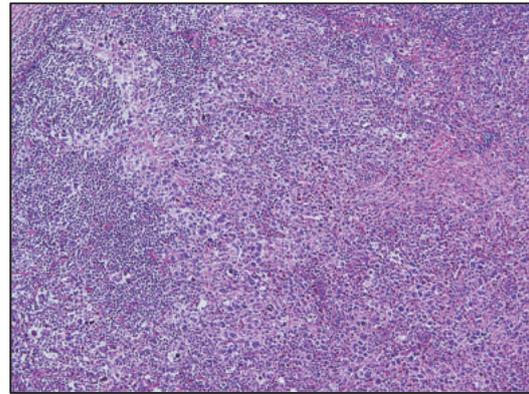
写真Dは、メセナミン銀液の反応時間が短すぎるため、菌壁が全く染まっていない。

写真Eは、菌塊の中には暗茶褐色調に染まっている菌壁も確認できるが、反応時間は不十分である。全ての菌壁が暗茶褐色調になるまで反応させなければならない。

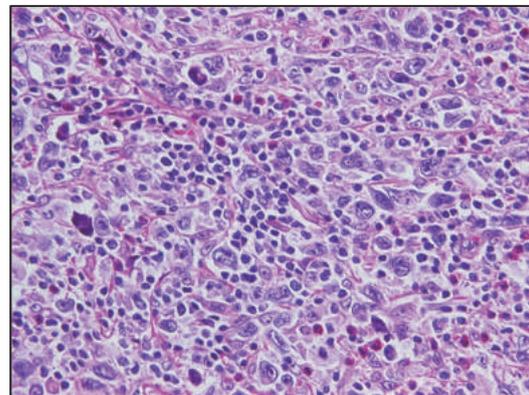
【設問7】

リンパ節生検のH.E染色と免疫染色の写真です。染色像から組織型として最も適切なものを選択してください。

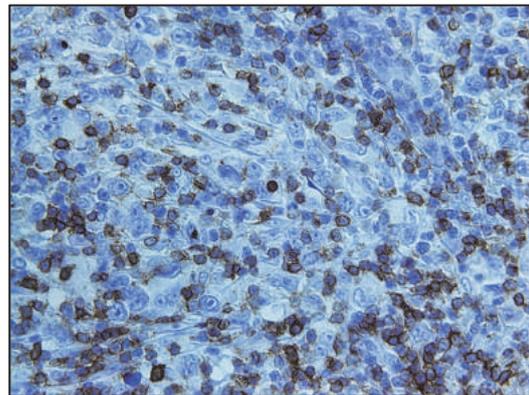
H.E染色 対物×10



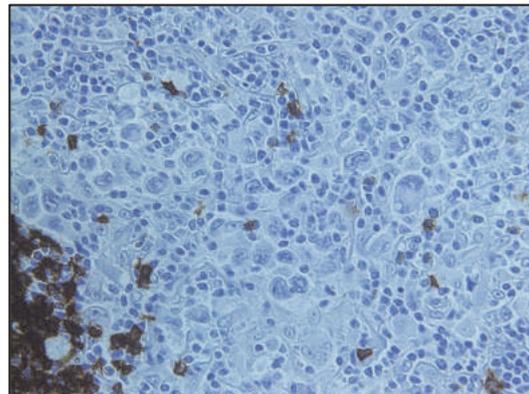
H.E染色 対物×40



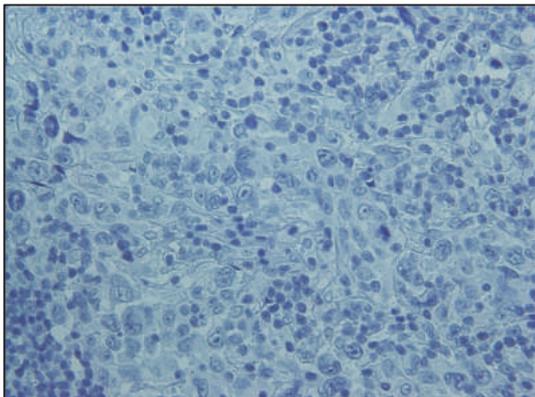
CD3 対物×40



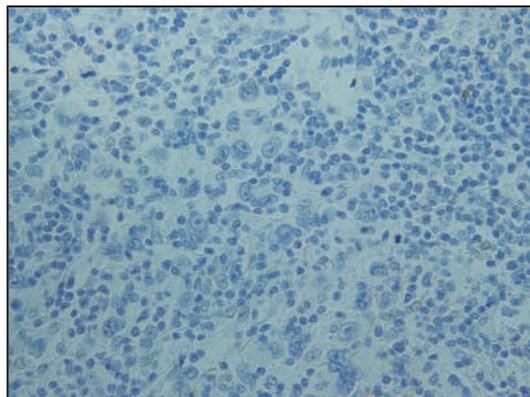
CD20 対物×40



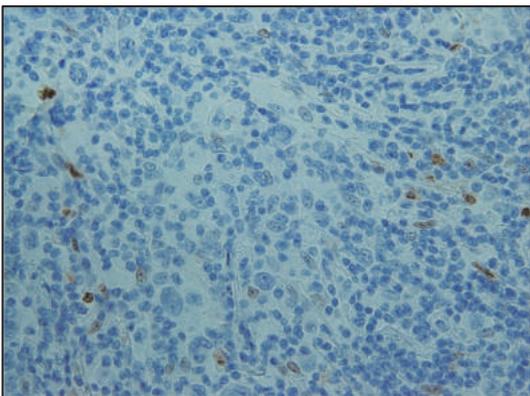
ALK 対物×40



CD10 対物×40

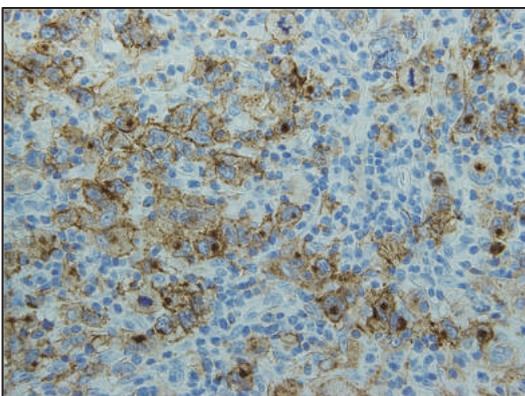


Cyclin D1 対物×40



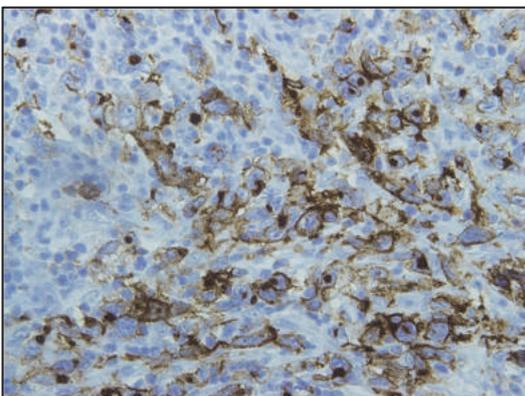
- ① Mantle cell lymphoma
- ② Hodgkin's lymphoma
- ③ Diffuse large B-cell lymphoma
- ④ Follicular lymphoma
- ⑤ MALT lymphoma

CD30 対物×40



	回答施設数	回答率
② Hodgkin's lymphoma	57 件	100%

CD15 対物×40



[正解]

- ② Hodgkin's lymphoma

H.E染色対物10倍の写真では、正常のリンパ節に見られるリンパ濾胞構造を確認することができない。H.E染色対物40倍の写真では、多数の小型リンパ球を背景に、単核あるいは多核の大型異型細胞が認められ、核形不整、核小体の腫大が確認できる。単核大型異型細胞はHodgkin細胞、多核大型異型細胞はReed-Sternberg細胞が考えられる。したがって、H.E染色の写真からHodgkin's lymphomaが疑われる。

免疫染色の写真で、大型異型細胞はCD3(-)、CD20(-)、ALK(-)、Cyclin D1(-)、CD30(+)、CD15(+)、CD10(-)であった。H.E染色および免疫染色の結果よりHodgkin's lymphomaと診断できる。

本設問に用いた抗体について説明する。

CD3はT細胞の細胞膜に発現している。最も信頼できるT細胞性マーカーとして、T-cell lymphomaの診断に用いられる。

CD20はB細胞の細胞膜に発現している。CD79aと併用し、B-cell lymphomaの鑑別、Hodgkin's lymphomaのHodgkin細胞やReed-Sternberg細胞の陰性確認として用いられる。

ALKはt(2;5)(p23;q35)陽性のAnaplastic large cell lymphomaの腫瘍細胞の細胞質と、一部、核に発現している(60~85%)。

Cyclin D1は腸管上皮細胞、組織球、血管内皮細胞の核に発現している。Mantle cell lymphomaのマーカーとして特に重要である。

CD30は活性化B細胞と活性化T細胞のGolgi野と細胞膜に発現している。Hodgkin's lymphomaのReed-Sternberg細胞（ほぼ100%）や、Anaplastic large cell lymphomaに陽性を示す。

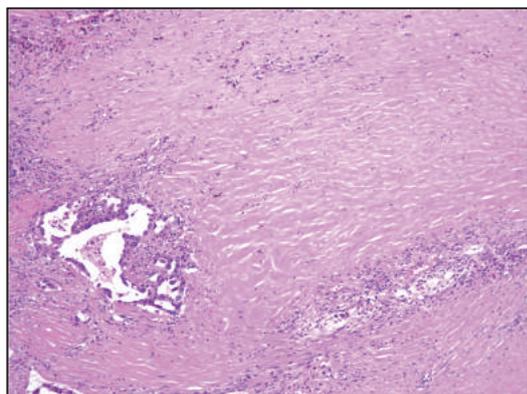
CD15は好中球、単球、組織球などのGolgi野と細胞膜に発現している。Hodgkin's lymphomaのReed-Sternberg細胞やHodgkin細胞の確認（75～85%に陽性）に用いられる。

CD10は胚中心のB細胞や腸管上皮細胞などの細胞膜に発現している。Follicular lymphomaやBurkitt's lymphomaの鑑別に用いられる。

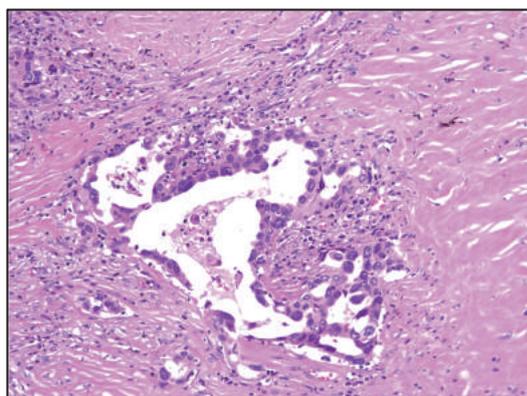
【設問 8】

肺腺癌と診断されたH.E染色の写真です。EGFR遺伝子変異解析検査に最も適した組織を選択してください。

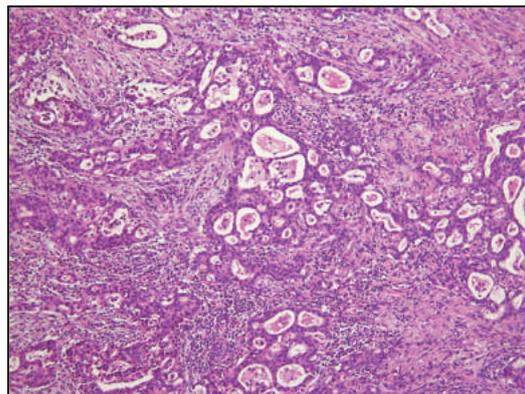
組織A 対物×10



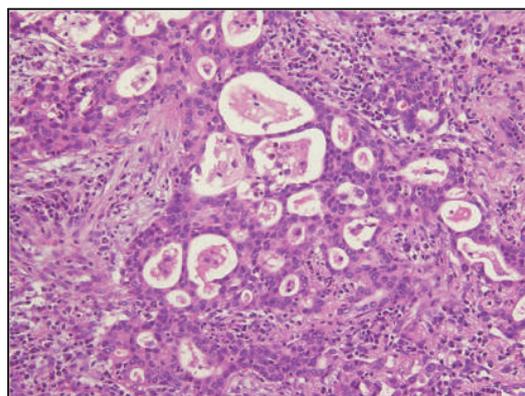
組織A 対物×40



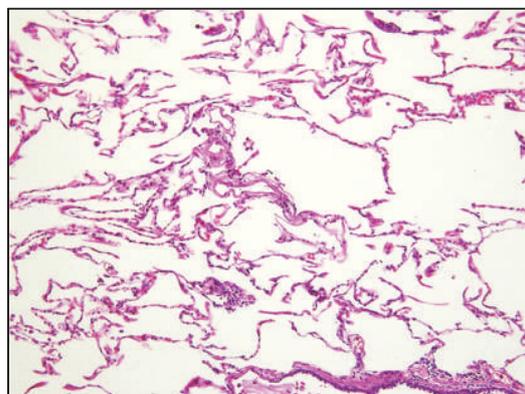
組織B 対物×10



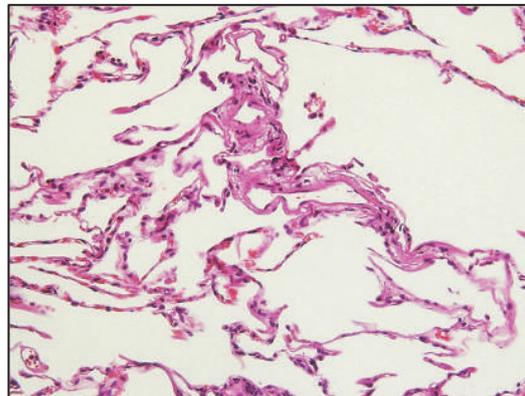
組織B 対物×40



組織C 対物×10



組織C 対物×40



- ① 組織Aのみが遺伝子変異解析に適している。
- ② 組織Bのみが遺伝子変異解析に適している。
- ③ 組織Cのみが遺伝子変異解析に適している。
- ④ 全ての組織が遺伝子変異解析に適している。
- ⑤ 全ての組織が遺伝子変異解析に適していない。

	回答施設数	回答率
① 組織Aのみが遺伝子変異解析に適している。	1件	1.8%
② 組織Bのみが遺伝子変異解析に適している。	54件	94.7%
③ 組織Cのみが遺伝子変異解析に適している。	1件	1.8%
⑤ 全ての組織が遺伝子変異解析に適していない。	1件	1.8%

[正解]

- ② 組織Bのみが遺伝子変異解析に適している。

EGFRとは、HERファミリーとよばれる4つのレセプター分子族の一員である。非小細胞肺癌をはじめとする多くの固形癌で過剰発現しており、がんの増殖シグナル伝達の起点となることが知られている。一般にEGFR遺伝子変異がおくとEGFRチロシンキナーゼのATP結合部位に構造変化が生じるため、リガンドの刺激がなくても恒常的に活性化するようになり、癌細胞はその増殖や生存がこの経路に依存した状態となる。

「肺癌患者におけるEGFR遺伝子変異検査の手引き」において、EGFR遺伝子変異解析検査に適した組織は、10%中性緩衝ホルマリン液を使用し固定時間を6~48時間以内とし、腫瘍細胞割合が20%以上存在する組織とされている。

組織Aは大部分が瘢痕組織であり腫瘍細胞割合が20%に満たない。また、遺伝子変異解析検査のために追加で薄切を行うと、腫瘍細胞割合がより低くなるのが懸念される。最悪の場合、腫瘍細胞が組織中から消失してしまう可能性が懸念されるためEGFR遺伝子変異解析検査に不適な組織である。

組織Bは背景にリンパ球浸潤を認めるが、腫瘍細胞割合を写真上(対物40倍)で計測すると40%以上であった。

腫瘍細胞割合は、カットオフ値である20%を大きく超えており、EGFR遺伝子変異解析検査に適した組織である。

組織Cは、正常の肺組織である。腫瘍細胞を確認することができないためEGFR遺伝子変異解析検査に不適な組織である。

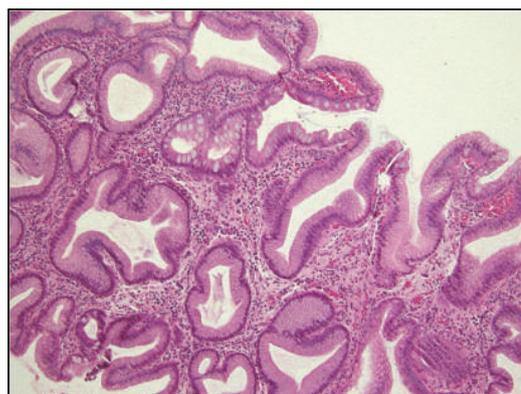
遺伝子変異解析検査では、腫瘍細胞含有率が測定系の精度に大きな影響を与えるため、使用される組織検体は分子標的薬のターゲットとなる腫瘍細胞が含まれていなければならない。本設問の出題意図は、マクロダイセクションを考慮せずに提示した組織からEGFR遺伝子変異解析検査に最も適した組織を選択するものである。

【設問9】

内視鏡室より提出された病理依頼書と生検組織のH.E染色の写真です。病理技師の対応として最も適切なものを選択してください。

病理依頼書

H.E染色 対物×10



- ① 問題なく標本作製が完了しているので病理医へ提出する。
- ② 切片が厚く病理診断に支障をきたす為、再度標本作製を行う。
- ③ 癌が疑われる為、依頼医に連絡する。
- ④ 癌が疑われる為、免疫染色を行う。
- ⑤ 採取臓器の取り違えの可能性があるので、依頼医に確認する。

	回答施設数	回答率
① 問題なく標本作成が完了しているので病理医へ提出する。	1件	1.8%
③ 癌が疑われる為、依頼医に連絡する。	1件	1.8%
⑤ 採取臓器の取り違えの可能性がある為、依頼医に確認する。	55件	96.5%

[正解]

⑤ 採取臓器の取り違えの可能性がある為、依頼医に確認する。

日本病理学会から発刊されている「病理検体取扱いマニュアル」では、病理診断申込書と作製されたH.E染色標本で、検体数や検体部位、氏名、病理番号、枝番号を確認することが推奨されている。

設問の病理依頼書の写真では、採取臓器が食道となっている。一方、H.E染色対物10倍の写真では、円柱上皮で構成された組織である。食道粘膜は重層扁平上皮で構成される組織であるため、提出された検体と病理依頼書に記載された採取臓器が一致していない。採取検体の取り違えによる医療事故に繋がる可能性があるため、速やかに依頼医に連絡し確認しなければならない。

【設問10】

試薬A、試薬B、試薬Cの写真です。毒物及び劇物取締法に於いて、劇物と区分される試薬を選択してください。

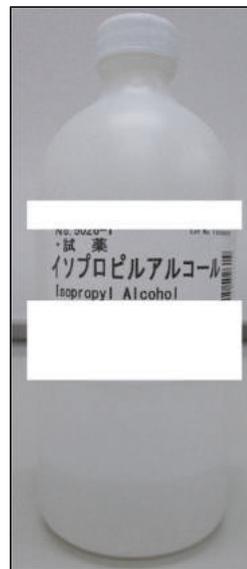
試薬A



試薬B



試薬C



- ① 試薬Aのみが劇物である。
- ② 試薬Bのみが劇物である。
- ③ 試薬Cのみが劇物である。
- ④ 試薬Aと試薬Bが劇物である。
- ⑤ 全ての試薬が劇物である。

	回答施設数	回答率
① 試薬Aのみが劇物である。	56件	98.2%
④ 試薬Aと試薬Bが劇物である。	1件	1.8%

[正解]

① 試薬Aのみが劇物である。

「毒物及び劇物取締法（毒劇法）」とは、毒物および劇物について、保健衛生上の見地から必要な取締を行う

法律である。病理検査で使用される試薬の内、劇物に区分される試薬は、ホルムアルデヒド、キシレン、硝酸銀、無水クロム酸などである。

写真Aの5%クロム酸液は「毒劇法」において「劇物」に区分されている。

写真Bの亜硫酸水は、「労働安全衛生法」などに規定されるが、「毒劇法」では規定されない。

写真Cのイソプロピルアルコールは、「労働安全衛生法」「消防法」などで規定されるが、「毒劇法」では規定されない。

病理検査室では、業務の特性上、様々な試薬を取り扱うため、各種試薬について関連する法規を理解しなければならない。

Ⅶ. まとめ

今回の精度管理調査では、病理組織学の基礎的事項、固定方法や組織標本作製に関する内容など日常業務に直結するフォトサーベイを実施した。全ての設問で正解率が90%以上であった。不正解となった設問の中では、特殊染色に関する内容が最も正解率が低かった。良好な病理組織標本が無ければ正確な病理診断を行うことができないため、病理組織学の知識と検査技術の向上が求められる。フォトサーベイの精度管理調査は、病理検査の精度保証を確立する上で重要な役割を果たしているため今後も継続的な調査が必要である。

Ⅷ. 参考文献

1. JAMT技術教本シリーズ 病理検査技術教本, 丸善出版
2. 胃癌取扱い規約第15版, 金原出版
3. 病理と臨床vol.30臨時増刊号 病理解剖マニュアル, 文光堂
4. 病理と臨床vol.38臨時増刊号 免疫組織化学 実践的な診断・治療方針決定のために, 文光堂
5. 免疫組織データベースいむ〜の Antibody Database, <http://immuno2.med.kobe-u.ac.jp>
6. ジュンケイラ組織学第4版, 丸善出版
7. 大腸癌取扱い規約第9版, 金原出版
8. カラールービン病理学臨床医学への基盤, 西村書店
9. 二級臨床検査士資格認定試験のための病理技術教本, 日本臨床検査同学院
10. 入門組織学, 南江堂
11. 実践病理組織細胞診染色法カラー図鑑<第三版>, 近代出版
12. リンパ腫アトラス第5版, 文光堂
13. 病理検体取扱いマニュアルー病理検体取り違えを防ぐためにー(初版案), 一般社団法人 日本病理学会
14. 平成29年度 日臨技認定病理検査技師指定講習会資料ー病理検査室の作業環境対策に必要な知識と技能ー, 日本医科大学
15. 肺癌患者におけるEGFR遺伝子変異検査の手引き

4.3版, 日本肺癌学会

16. ゲノム研究用・診療用病理組織検体取扱い規定, 羊土社

Ⅸ. 問い合わせ先

〒491-8551 愛知県一宮市桜一丁目9番9号
社会医療法人大雄会 総合大雄会病院

技術検査科

鈴木 健太郎

TEL : 0586-72-1211

E-mail : kentarou-suzuki@daiyukai.or.jp