

病 理 検 査 部 門

精度管理事業部員	中村 広基	西尾市民病院 TEL 0563-56-3171
実務担当者	黒木 雅子	(厚生連豊田厚生病院)
	水嶋 祥栄	(名古屋第二赤十字病院)

I. はじめに

病理診断ではヘマトキシリン・エオジン染色標本を基本として行われているが、それに加え免疫染色標本を診断の補助に使用するようになって久しい。これまでに、ホルマリン固定標本で検出可能な多種のモノクローナル抗体の開発、酵素標識ポリマー法などの優れた検出システム、抗原賦活法の開発改善など、多くの研究が進んだ。また、免疫染色の一連の操作を自動化した機器も発売され、抗原の検出が比較的容易になってきた。

しかし、これらにより、染色の方法や手技は非常に多彩となっている。また、同一の抗原を検出する抗体についても多くのクローンが存在し、しかも抗体ごとに推奨される賦活方法が異なり、必ずしも1方法に指定されていない。したがって、各施設でこの多彩な条件の中から最適な染色条件を設定することになり、たとえ同一抗体を用いた染色であっても施設間で異なった染色方法が実施され、実際に染め上がった標本の染色状態も多様であるのが現状である。

このような免疫染色の現状を把握するために、平成21年度愛知県臨床検査精度管理調査では「抗CD3抗体を用いた免疫染色法」を実施した。

II. 参加施設

平成21年度愛知県臨床衛生検査技師会精度管理調査に参加した124施設中、病理検査部門への参加は38施設であった。

III. 調査目的および方法

前述したように、現在免疫染色はいろいろな手法で行われている。今回の調査では、抗CD3抗体と未染標本を用意、配布して各施設の方法で免疫染色を実施してもらった。未染標本作製までの条件を統一

することにより、染色手技のみが染色結果に反映するよう配慮した。また同時に、各施設が保有する抗CD3抗体の染色状態の把握を主な目的として、抗CD3抗体を保有している施設にはそれを用いた染色も任意で実施してもらった（評価対象外）。さらに各施設の染色状況を把握しやすいようにアンケート形式で染色方法を記述してもらい回収した。

IV. 材料

材料として、T細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、肝組織を用意し、TMA (Tissue micro array) ブロックを作成した。そのTMAブロックを2 μ m厚で薄切し、MASコーティングスライドガラスに貼り付けて、精度管理調査用、任意自施設抗体用、予備用の計3枚を各施設に配布した。

また抗CD3抗体は、DAKO抗ヒトCD3 T細胞・ウサギポリクローナル抗体濃縮液をDAKO REAL Antibody Diluentにて100倍に希釈して、各施設に1.5ml程度ずつ冷蔵で配布した。

V. 評価方法

標本を回収後、病理班班員17名にて鏡検を行い評価基準に合わせて評価を行なった。

評価は、染色標本を実際に判断する場合に重要な5つのポイントを点数化して行った。同時に、弱拡大にて抗原の発色を確認できることを主目的とし、核染色とのバランスとあわせて総合的にA・B・Cと判定した。

VI. 評価基準

1. 評価ポイント（表1）

評価ポイントは次の5項目で、16点を満点とした。

1. 抗原の染色性（最高5点）
2. 共染の有無（最高3点）
3. 組織の剥れ（最高3点）
4. 核染色の濃さ（最高1点）
5. 核染色とのコントラスト（最高4点）

抗原の染色性および核染色とのコントラストの2項目を重要ポイントに設定し、最大点数に反映した。

逆に核染色の濃さについては、核が認識できるかどうかのみを評価し、点数配分を低く設定した。

2. 総合評価

総合評価は“1. 抗原の染色性”、“5. 核染色とのコントラスト”を重視して、次のように設定した。

- A. 弱拡大で陽性細胞の確認ができ、判別可能と思われる標本である
- B. 若干、染色性に問題はあるものの陽性細胞が判別可能と思われる標本である
- C. 染色性に問題があり改善を要すると思われる標本である

表1. 評価ポイントの採点基準

項目1) 抗原の染色性(細胞膜が陽性であり、弱拡大で間違いなく視認できるか)	
5点	細胞膜が陽性であり、弱拡大で確実に視認できる
4点	発色は若干弱いが見落としをする可能性は低い
2点	発色が弱く見落としが危惧される
0点	ほとんど染まっていない
項目2) 共染の有無(バックグラウンドや細胞質、陰性細胞への共染が起こっていないか)	
3点	ほとんどみられない
2点	多少認めるが細胞膜に染色性のある陽性細胞との区別が可能である
0点	バックグラウンドや、疑陽性、細胞質への染色により、真の陽性細胞が不明確である
項目3) 組織の剥れ(組織への過剰なダメージがなく標本として適切か)	
3点	剥れや捲れがほとんどない
2点	剥れや捲れはあるが、十分判別できる
0点	ほとんど剥れている
項目4) 核染色の濃さ(核染が適切で、陽性細胞と陰性細胞が区別できるか)	
1点	陽性細胞と陰性細胞とが区別できる
0点	陽性細胞と陰性細胞とが区別し難い、もしくはできない
項目5) コントラスト(抗原の染色と核染色のコントラストは適切か)	
4点	程よい核染の濃さで抗原の染色性を対比する標本である
3点	抗原の染色性とのバランスは若干悪いが弱拡大で十分判別可能である
2点	抗原の染色性とのバランスは悪いが強拡大にすると判別が可能である
1点	抗原の染色性とのバランスが悪く見落としを誘発する危険がある
0点	抗原が染まっていない、あるいは核染が抗原の染色性をマスクし評価不能である

VII. 判定結果

参加38施設の判定結果は、A判定が28施設(74%)、B判定が8施設(21%)、C判定が2施設(5%)であった。

染色態度は様々で、抗原の発色がほとんど認められない標本や、気泡が原因と考えられる染色ムラを認める標本もみられた。なお、染色ムラについては本標本では判断に影響が少ないと思われるため、今回の評価ポイントには設定しなかった。

最も評価の高かった用手法と機械法、染色状態に問題のあった標本について、それぞれの画像を巻末のカラーページに示す(写真1~7)。

VIII. 免疫染色方法のアンケート結果

アンケート結果の報告にあたって、より詳細な集計を行う目的で、各評価ポイントの総合計を計算した。それを基に各施設に順位(同順有)をつけ、総合判定のA判定施設をAa群(上位7位まで9施設)、Ab群(19位まで10施設)、Ac群(32位まで9施設)に区分した。同様に評価ポイントのうち、抗原の染色性についても、合計の上位から約60%、約20%、約15%、約5%の順にそれぞれ、a群、b群、c群、d群とした。総合判定と割合が異なるのは上位で同順位が多いためである。染色状態の各ポイントについて比較をする場合にはこの区分を利用する。

また、各施設の染色標本を同一設定にて顕微鏡撮影を行い、画像編集ソフト（フォトショップ）の色の抽出機能を用いて、CD3 抗原陽性細胞の DAB 発色した細胞質と陰性細胞の核の RGB 値を求めた。なおサンプリングはそれぞれ無作為に 10 箇所から行った。そして DAB 発色の色調と核の色調のそれぞれの平均値を比較した（別表 1～6）。

総合判定、抗原の染色性ともに DAB の染色状態は、上位群がもっとも濃く、順に薄くなる傾向がみられた（別表 1、2）。しかし、総合判定では抗原の染色性以外のポイントも判定に加味されているためと思われるが、Ab 群、Ac 群で発色の強さが逆転した。

1. 染色方法

染色方法は、参加 38 施設のうち機械法が 25 施設（66%）、用手法が 10 施設（26%）、シーケンザを用いた用手法が 3 施設（8%）であった（図 1）。

染色方法と抗原の染色性で比較すると、機械法では a 群が 25 施設中 21 施設（84%）と最も多く、用手法では c 群が 10 施設中 5 施設（50%）、b 群が 10 施設中 3 施設（30%）と、機械法が用手法より高い評価を得る傾向が見られた。シーケンザを用いた用手法では、a 群、b 群、d 群と 1 施設ずつで、ばらつきがみられた（表 2）。

染色方法と総合判定で比較した場合も同様な傾向がみられた（表 3）。

機械法と用手法での色調の違いを別表 3 に示す。機械法は用手法やシーケンザを用いた用手法と比較して、発色が強い傾向を認めた。しかし、陰性細胞の核の染色の強さについては、用手法 2 種の方が若干強く発色する傾向を認めた。

機械法を実施している 25 施設の機器メーカーの内訳は、ロシュ社が 17 施設（68%）、DAKO 社が 5 施設（20%）、三菱化学メディエンス社が 2 施設（8%）、協和メデックス社が 1 施設（4%）であった（表 4）。

図1. 染色方法

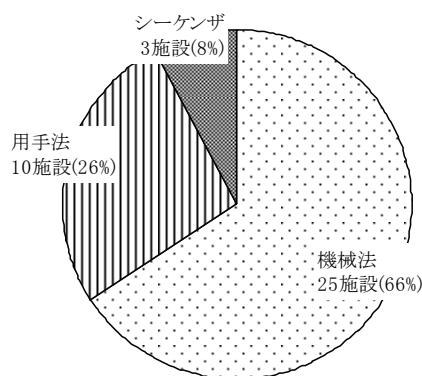


表2. 染色方法と抗原の染色性

	a	b	c	d	総計
機械法	21(84)	3(12)	1(4)	0(0)	25
用手法	1(10)	3(30)	5(50)	1(10)	10
シーケンザを用いた用手法	1(33)	1(33)	0(0)	1(33)	3
総計	23	7	6	2	38

*()内はそれぞれの方法に対する割合(%)

表3. 染色方法と総合評価

	Aa	Ab	Ac	B	C	総計
機械法	7(28)	8(32)	8(32)	2(8)	0(0)	25
用手法	1(10)	2(20)	1(10)	5(50)	1(10)	10
シーケンザを用いた用手法	1(33)	0(0)	0(0)	1(33)	1(33)	3
総計	9	10	9	8	2	38

*()内はそれぞれの方法に対する割合(%)

表4. 使用機器のメーカー

機器メーカー名	内訳
ロシュ社（ベンタナ XT システム等）	17(68)
DAKO 社（Autostainer plus 等）	5(20)
三菱化学メディエンス社（Bond-X 等）	2(8)
協和メデックス社（i6000, Optimax Plus 等）	1(4)

*()内はそれぞれの方法に対する割合(%)

2. 検出法

検出法は、参加 38 施設のうち LSAB 法が 19 施設（50%）、ポリマー法が 17 施設（45%）、ABC 法が 2 施設（5%）であった（表 5）。LSAB 法を利用している 19 施設中、18 施設がロシュ社の染色機を利用していた。

検出法と抗原の染色性で比較すると、LSAB 法では、a 群、b 群の比率が多い傾向がみられ、ポリマー法では、a 群が比較的多いものの、a 群から d 群までばらつきがみられた（表 5）。

総合判定で比較すると、ABC 法、ポリマー法が共に抗原の染色性と同様の傾向がみられたが、LSAB 法では、若干評価が下がる傾向がみられた（表 6）。

表5. 検出法と抗原の染色性

	a	b	c	d	総計
ABC 法	0	2(0)	0	0	2(0)
LSAB 法	15(15)	3(2)	1(1)	0	19(18)
ポリマー法	8(6)	2(1)	5(0)	2(0)	17(7)
総計	23(21)	7(3)	6(1)	2(0)	38(25)

*()内は機械法の数

表6. 検出法と総合評価

	Aa	Ab	Ac	B	C	総計
ABC 法	0	1(0)	1(0)	0	0	2(0)
LSAB 法	4(4)	8(7)	6(6)	1(1)	0	19(18)
ポリマー法	5(3)	1(1)	2(2)	7(1)	2(0)	17(7)
総計	9(7)	10(8)	9(8)	8(2)	2(0)	38(25)

*()内は機械法の数

検出試薬は、機器メーカーと同様にロシュ社の iVIEW DAB Universal Kit が多く、続いて DAKO 社の EnVision、ニチレイ社のシンプルステインの順であった (表 7)。ロシュ社と DAKO 社の検出試薬では a 群が多い傾向がみられたが、これは機械法が多いためと思われる。(表 8)。

表7. 検出試薬と抗原の染色性

	a	b	c	d	総計
ロシュ iVIEW DAB Universal Kit	15(15)	1(1)	1(1)	0	17(17)
DAKO EnVision	6(5)	0	3(0)	1(0)	10(5)
ニチレイ シンプルステイン	1(0)	1(0)	2(0)	1(0)	5(0)
BOND ポリマーシステム ユニバーサルキット	1(1)	1(1)	0	0	2(2)
DAKO LSAB2	0	1(0)	0	0	1(0)
VECTASTAIN ANTI-RABBIT(MOUSE) IgG Biotinylated Antibody	0	1(0)	0	0	1(0)
協和ステイン Link	0	1(1)	0	0	1(1)
総計	23(21)	6(3)	6(1)	2(0)	37(25)

*()内は機械法の数

表8. 検出試薬と総合評価

	Aa	Ab	Ac	B	C
ロシュ iVIEW DAB Universal Kit	4(4)	7(7)	5(5)	1(1)	0
DAKO EnVision	4(3)	1(1)	0	4(1)	1(0)
ニチレイ シンプルステイン	1(0)	0	0	3(0)	1(0)
BOND ポリマーシステム ユニバーサルキット	0	0	2(2)	0	0
DAKO LSAB2	0	1(0)	0	0	0
VECTASTAIN ANTI-RABBIT(MOUSE) IgG Biotinylated Antibody	0	0	1(0)	0	0
協和ステイン Link	0	0	1(1)	0	0
総計	9(7)	9(8)	9(8)	8(2)	2(0)

*()内は機械法の数

3. 賦活

賦活について調査したところ、参加 38 施設の全てが加熱処理を行っており、蛋白分解酵素など他の方法を利用している施設は存在しなかった。加熱処理の賦活手段として自動免疫染色装置の賦活機能が 18 施設 (47%) と最も多く、電気ポットなどの恒温機器が 8 施設 (21%)、マイクロウェーブが 7 施設 (18%) であった (表 9)。

賦活方法と抗原の染色性で比較すると、例数は少ないがマイクロウェーブを用いた施設は a 群から d 群までばらつきがあり、クエン酸系の賦活液を使用している施設でその傾向は大きかった (表 9)。同様に他の方法でもクエン酸系の賦活液は評価がばらつく傾向を認めた。

一方、自動免疫染色装置の賦活機能を用いた施設は 18 施設あり、そのうち 17 施設が a 群で、b 群となった 1 施設は賦活液としてクエン酸系を用いていた。またトリス EDTA 系を使用している 15 施設は全て a 群であった。

オートクレーブおよび圧力釜 (鍋) を使用している施設は全てクエン酸系の賦活液を使用していた。表 11 にクエン酸系賦活液と抗原の染色性を賦活方法別に集計した。若干賦活が弱く不安定といわれているクエン酸系を用いてのマイクロウェーブ法を実施しても、多くの施設は抗原の染色性が十分得られていたが、1 施設はほとんど染まっていなかった。

賦活温度についてマイクロウェーブ、温浴法、圧力釜 (鍋) は、ほとんどの施設が 95℃以上、オートクレーブは 121℃という設定であった。

表 9 で示した賦活方法別・賦活液ごとの平均の RGB 値と色調を巻末のカラーページに示す (別表 4)。高評価群が多い方法では茶褐色濃度の濃い色調を示し、色調と評価とが相関する結果となった。

別表 5 に賦活方法別、別表 6 に賦活液別に RGB 値と色調を示す。賦活効果の高いと言われている方法が強い褐色を示し、逆に核染色は薄くなる傾向が認められた。これは熱賦活に関する従来からの研究・報告と同様の結果となった。

しかし、別表 4、5 で示したようにオートクレーブに関しては、圧力釜 (鍋) よりも DAB 発色の色調が弱い結果となった。両法とも全ての施設がクエン酸系の賦活液を使用している。機械法、用手法の割合など他の情報と照らし合わせて究明を試みたが、オートクレーブの発色が弱くなった原因は不明であった。

表9. 賦活方法と抗原の染色性

賦活方法	賦活液	a	b	c	d	総計
マイクロウェーブ	クエン酸系	0	2(1)	1	1	4(1)
	中性域クエン酸系	0	0	0	1	1
	トリス EDTA 系	1(1)	1	0	0	2(1)
電気ポットなどの恒温機器	クエン酸系	0	1	2	0	3
	イムノセイバー	1(1)	0	1	0	2(1)
	トリス塩酸系	1	0	0	0	1
	トリス EDTA 系	2(1)	0	0	0	2(1)
圧力釜(鍋)	クエン酸系	1(1)	1(1)	0	0	2(2)
オートクレーブ	クエン酸系	0	1	2(1)	0	3(1)
自動免疫染色装置の賦活機能	クエン酸系	0	1(1)	0	0	1(1)
	EDTA 溶液	1(1)	0	0	0	1(1)
	トリス塩酸系	1(1)	0	0	0	1(1)
	トリス EDTA 系	15(15)	0	0	0	15(15)
総計		23(21)	7(3)	6(1)	2	38(25)

*()内は機械法の数

表 10. 賦活方法と総合評価

賦活方法	賦活液	Aa	Ab	Ac	B	C	総計
マイクロウェーブ	クエン酸系	0	1(1)	1(0)	1(0)	1(0)	4(1)
	中性域クエン酸系	0	0	0	0	1(0)	1(0)
	トリス EDTA 系	0	1(0)	0	1(1)	0	2(1)
電気ポットなどの恒温機器	クエン酸系	0	0	0	3(0)	0	3(0)
	イムノセイバー	1(1)	0	0	1(0)	0	2(1)
	トリス塩酸系	1(0)	0	0	0	0	1(0)
	トリス EDTA 系	2(1)	0	0	0	0	2(1)
圧力釜(鍋)	クエン酸系	1(1)	0	1(1)	0	0	2(2)
オートクレーブ	クエン酸系	0	1(0)	0	2(1)	0	3(1)
自動免疫染色装置の賦活機能	クエン酸系	0	0	1(1)	0	0	1(1)
	EDTA 溶液	0	0	1(1)	0	0	1(1)
	トリス塩酸系	0	1(1)	0	0	0	1(1)
	トリス EDTA 系	4(4)	6(6)	5(5)	0	0	15(15)
総計		9(7)	10(8)	9(8)	8(2)	2(0)	38(25)

*()内は機械法の数

表 11. クエン酸系賦活液と抗原の染色性

賦活方法	a	b	c	d	総計
マイクロウェーブ	0(0)	2(1)	1(0)	1(0)	4(1)
電気ポットなどの恒温機器	0	1(0)	2(0)	0	3(0)
圧力釜(鍋)	1(1)	1(1)	0	0	2(2)
オートクレーブ	0	1(0)	2(1)	0	3(1)
自動免疫染色装置の賦活機能	0	1(1)	0	0	1(1)
総計	1(1)	6(3)	5(1)	1(0)	13(5)

*()内は機械法の数

4. 内因性ペルオキシダーゼ除去操作

内因性のペルオキシダーゼ除去操作について、賦活操作後、一次反応前に行う施設が 29 施設 (76%) と最も多かった (表 12)。除去操作を行わない施設が 2 施設あり共に Ab 群であった。そのうちの 1 施設は赤血球などに偽陽性像を認めたものの、今回の標本では、誤判定につながると思われるほど強い発色ではなかった。

除去操作の反応温度については、室温、37℃、42℃ という結果であった。加温をしている施設の全てが染色装置を用いて染色を行っており、用手法 (シーケンザを含む) の施設は全て室温での反応であった。しかし機械法を用いる全ての施設が加温しているのではなく、機械法全体の約 60% であった。

除去操作のタイミング、使用試薬、時間はさまざまであった。

表 12. 内因性ペルオキシダーゼ除去操作と総合評価

	Aa	Ab	Ac	B	C	総計
賦活操作前	0	1(1)	1(1)	1(0)	0	3(2)
賦活操作後、一次抗体反応前	8(6)	6(5)	6(5)	7(2)	2(0)	29(18)
一次抗体反応後	1(1)	1(1)	1(1)	0	0	3(3)
発色する前	0	0	1(1)	0	0	1(1)
行わない	0	2(1)	0	0	0	2(1)
総計	9(7)	10(8)	9(8)	8(2)	2(0)	38(25)

*()内は機械法の数

5. 抗体の希釈

今回、100 倍希釈した抗 CD3 抗体を配布したが、染色を行う諸条件により適正な抗体濃度が異なるため、各施設で希釈する可能性を含めて調査を行った。

100 倍希釈した抗 CD3 抗体を更に希釈した施設は 9 施設 (24%) で、1 施設を除いて機械法の施設であった。内訳を表 13 に示す。

抗原の染色性と希釈濃度を比較したが、評価について顕著な傾向を示さなかった。しかし、最終希釈濃度が 500 倍の抗体を用いた用手法の施設は c 群であった。

表 13. 抗体の希釈濃度

	最終希釈濃度	a	b	c	d	総計
いいえ	(100 倍)	17(15)	5(2)	5(1)	2(0)	29(18)
希釈した	200 倍	4(4)	1(0)	0	0	5(4)
	300 倍	0	1(1)	0	0	1(1)
	400 倍	2(2)	0	0	0	2(2)
	500 倍	0	0	1(0)	0	1(0)
総計		23(21)	7(3)	6(1)	2(0)	38(25)

*()内は機械法の数

6. その他

染色結果の自己評価 (表 14)、一日の染色枚数 (表 15)、施設ごとの抗体原液の保管状況 (表 16)、希釈済み抗体使用液の保存 (表 17)、抗体希釈に使用する希釈用試薬 (表 18)、についてそれぞれ表にまとめた。

表 14. 染色結果の自己評価

	Aa	Ab	Ac	B	C	総計
満足	4	4	2	2	0	12
やや満足	2	2	4	2	0	10
普通	3	4	3	3	2	15
やや不満	0	0	0	1	0	1
総計	9	10	9	8	2	38

表 15. 一日の染色枚数

染色枚数	Aa	Ab	Ac	B	C	総計
21 枚以上	3(3)	2(2)	3(2)	1(1)	0	9(8)
10~20 枚	5(4)	4(4)	4(4)	2(1)	0	15(13)
9 枚以下	1(0)	4(2)	2(2)	3(0)	1(0)	11(4)
1 枚以下	9(7)	10(8)	9(8)	6(2)	1(0)	35(25)

*()内は機械法の数

表 16. 抗体原液の保管状況

	総計
原液として保有していない	4
試薬瓶ごと市販冷蔵庫	12
試薬瓶ごと実験用冷蔵庫	11
市販冷蔵庫と-80℃実験用冷凍庫	2
分注して実験用冷凍庫(約-30℃)	1
分注して実験用冷凍庫(約-80℃)	5
総計	35

表 17. 希釈済み抗体使用液の保存

	総計
市販冷蔵庫	21
実験用冷蔵庫	15
保冷库(約 5℃)	1
総計	37

表 18. 抗体希釈に使用する希釈用試薬

	総計
BOND 抗体希釈液	1
DAKO Antibody Diluent	13
DAKO Antibody Diluent Background Reducing	1
IBL Ab-Dilution Buffer	1
10mM PBS pH7.4	1
ロシユ VENTANA Antibody Diluent	2
自家製 0.1%BSA, 0.1%NaN3 含有 PBS	8
自家製 1%BSA, 0.05%NaN3 含有 PBS	1
総計	28

コントロールについての集計を表 19 に示す。38 施設中 11 施設でコントロールは立てていないとの回答であった。27 施設はいずれかのタイミングでコントロールを立てており、その対象抗体は Her2/neu、ER、PgR が最も多く、他にはウィルス系の検出抗体、HMB45、TTF-1 などの回答があった。

抗体の使用期限についての集計を表 20 に示す。37 施設中 23 施設が管理していない、あるいは染まる限り使用するという回答であった。管理していると回答した施設で、使用期限を管理する抗体のほとんどは Her2/neu、ER、PgR であった。

表 19. コントロールについて

	総計
コントロールは立てていない	11
抗体ごとに定期的に立てる	2
抗体ごとに不定期に立てる	6
抗体ごとに毎回立てる	3
抗体によっては、定期的に立てる	2
抗体によっては、不定期に立てる	4
抗体によっては、毎回立てる	7
症例によって立てる	1
内因性のコントロールが取れない時必要に応じてコントロールを立てる	1
病理医から指示のあった場合に立てる	1
総計	38

表 20. 抗体の使用期限

	Aa	Ab	Ac	B	C	総計
管理していない	1	0	0	0	0	1
染まる限りは使用している	6	3	6	6	1	22
一部の抗体について設定している	1	1	0	2	0	4
保有する全ての抗体について設定している	1	5	3	0	1	10
総計	9	9	9	8	2	37

7. 自施設保有抗体を用いた染色

同時に実施した自施設の保有する抗体を用いた染色調査への参加は 33 施設 (87%) であった。保有抗体と配布抗体の総合評価の集計を表 21 に示す。

自施設保有および配布の抗体ともに A 判定は 23 施設 (70%)、B 判定は 4 施設 (12%)、C 判定は 1 施設 (3%) で、28 施設 (85%) で両抗体の評価が一致した。

次に、使用した自施設保有抗体の調整 (購入) 日と抗原の染色性の集計を表 22 に示す。

6 ヶ月以内に調整 (購入) した施設が 18 施設 (55%) で、a 群全体の 82% であり、高評価の傾向がみられた。しかし、21 ヶ月前の調整 (購入) でも a 群の施設や、逆に 1 ヶ月未満でも c 群、d 群の施設もあり、抗体の保存状態や他の要因でも抗原の染色性に影響がでると思われた。

表 21. 保有抗体の評価と配布抗体の評価

		配布抗体			総計
		A	B	C	
保有抗体	A	23(70)	2(6)	0	25
	B	3(9)	4(12)	0	7
	C	0	0	1(3)	1
総計		26	6	1	33

*() 内は全体に対する割合 (%)

表 22. 保有抗体の調整(購入)日と抗原の染色性

	a	b	c	d	総計
1 ヶ月未満	8	2	1	1	12
1 ヶ月	2	1	0	0	3
2 ヶ月	1	0	0	0	1
3 ヶ月	3	1	0	0	4
5 ヶ月	2	0	1	0	3
6 ヶ月	2	0	0	0	2
7 ヶ月	0	0	1	0	1
8 ヶ月	2	0	0	0	2
11 ヶ月	1	0	0	0	1
12 ヶ月	0	0	1	0	1
15 ヶ月	0	1	0	0	1
20 ヶ月	0	1	0	0	1
21 ヶ月	1	0	0	0	1
総計	22	6	4	1	33

IX. 総括

本年度は、病理部門の精度管理調査として「抗CD3抗体を用いた免疫染色法」を実施した。施設によって染色性は異なり、同一機器を使用しているにもかかわらず、ばらつきが存在している現状を改めて実感した。しかし、機器を使用して染色を行っている施設はA判定が92%と、用手法（シーケンザを使用している施設を含む）の39%より高い評価を得る傾向がみられ、精度管理を主眼におく場合においては、自動染色機を用いる方法は有効である可能性を示唆する結果となった。

検出法においてLSAB法、ポリマー法の違いでは顕著な傾向を見出すことができなかった。賦活方法の比較では、賦活能力が高いとされているトリスEDTA緩衝液やトリス塩酸緩衝液を用いて、温浴法、圧力釜法、自動免疫染色装置の賦活機能などで賦活を行う施設に高評価の傾向がみられた。ただし、強い熱賦活を行った場合、核の染色が弱くなることや核構造が不鮮明になるなどの影響がみられ、これらに配慮した核染色の時間や賦活時間などの調整をする必要があると思われた。

冒頭でも述べたが、免疫染色の方法や手技はさまざま、染色状態に影響をおよぼす要因は多い。例数が少なく十分な解析ができなかった要因も存在したが、傾向は捉えることができたと思われる。

今回の精度管理調査で、抗原の賦活化の工程は染色性および標本の評価に直結し、もっとも重要な要因のひとつであると考えられた。

これまでに、他県やその他小規模で免疫染色の精度管理調査が行われてきたが、いずれの調査においても施設間差が問題となっている。原因となりうる要素が多く、根本的な解決には至っていないが、病理医が診断に迷うことがないように、クオリティの高い染色標本を安定して提供することは我々病理検査技師の責務である。

今後は、本調査結果等を参考に自施設の現状を把握して、特に各抗体に対する賦活の検討はそれぞれの施設で十分に行っていただき、評価の高い方法の導入に期待したい。

また、今回行ったような外部精度管理調査への積極的な参加がさらに重要となってくると思われる。

最後に、今回精度管理調査に参加していただいた施設各位に深謝いたします。