

病 理 檢 查

⑬病理組織

⑭免疫組織化学染色

⑮細胞診

⑬病理組織(アルシアン青染色[pH 2.5])

【はじめに】

アルシアン青染色(pH 2.5)は、酸性粘液多糖類(酸性ムコ物質)の検出に最も一般的な染色法である。酸性ムコ物質には、上皮性粘液細胞のムチンや間質組織の構成成分であるプロテオグリカン(ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸、など)などが存在する。アルシアン青染色には、染色液を pH 2.5 または pH 1.0 に調整して実施する方法があり、前者は酸性ムコ物質のカルボキシル基と硫酸基の両者、後者は硫酸基のみと反応する。硫酸基を有する酸性ムコ物質、あるいは硫酸基そのものの存在の証明を目的とする場合は pH 1.0 の染色液を使用する必要があるが、酸性ムコ物質をスクリーニング的に検出する目的で実施する場合は pH 2.5 の染色液を用いる。

以下、アルシアン青染色(pH 2.5)をテーマとした今回のサーベイの方法と成績結果について報告する。

【試料および方法】

材料は 10%中性緩衝ホルマリン液にて固定した大腸で、3~4 μ m 程度に薄切し、伸展・乾燥のみ実施した状態の未染色標本を参加施設に送付し、日常実施しているプロトコールにてアルシアン青染色(pH 2.5)を実施していただいた。

また、染色工程により染色結果に差異が生じる可能性があるため、アンケート形式の報告書を Web 上で公開し、各施設で現在行っている工程の入力もお願いした。

【参加施設数】

今回のサーベイには 43 施設に参加していただいた。

【解析方法】

下記の事項について評価し、減点法で判定した。

1. 酸性ムコ物質が明瞭に染色されているか
2. 共染やコントラスト不良が見られないか
3. 色素粒子やゴミなどを認めないか

兵臨技 病理・細胞検査研究班 解析委員(8 人)で慎重に評価を行い、病理医の立場から、伊藤 智雄 先生(神戸大学医学部附属病院 病理部)にご確認いただいた。

【評価基準】

評価は、『A-a: 満足すべき標本』、『A-b: 診断上支障のない標本』、『B: 診断上支障はないが、改善が必要な標本』、『C: 診断上支障をきたす標本』とした。基準は以下の通りである。

A-a 評価 : 「満足すべき標本」

酸性ムコ物質が明瞭に染色されている。コントラストが良く、染色ムラ、共染をほとんど認めない。

A-b 評価 : 「診断上支障のない標本」

酸性ムコ物質が明瞭に染色されているが、軽度のコントラスト不良・染色ムラ・共染を認める。

あるいは、酸性ムコ物質の染色性がやや弱い。

B 評価 : 「診断上支障はないが、改善が必要な標本」

酸性ムコ物質は明瞭に染色されているが、コントラスト不良、染色ムラ、共染が強い。または、酸性ムコ物質の染色性が弱い。

C 評価 : 「診断上支障をきたす標本」

酸性ムコ物質が染色されていない。

【解析結果】

〔染色についてのアンケート集計〕

申し込み施設 43 施設に対し、アンケート回収率は 43 施設（100%）であった。

集計結果は別表に示すとおりである。

〔染色の評価結果〕

参加施設の評価結果を表 1 に示す。

- ・『A-a : 満足すべき標本』と判定された施設は 22 施設（51.2%）であった。
- ・『A-b : 診断上支障のない標本』と判定された施設は 15 施設（34.9%）であった。
- ・『B : 診断上支障はないが、改善が必要な標本』と判定された施設は 6 施設（13.9%）であった。
- ・『C : 診断上支障をきたす標本』と判定された施設は 0 施設（0%）であった。

表 1 病理組織（アルシアン青染色[pH 2.5]）評価結果

判定	A: 診断上支障のない標本		B: 診断上支障はないが、 改善が必要な標本	C: 診断上支障をきたす標本
	a	b		
施設数 (%)	22 (51.2)	15 (34.9)	6 (13.9)	0 (0)

【参加施設評価一覧】

参加施設の評価一覧を表 2 に示す。

表 2 病理組織（アルシアン青染色[pH 2.5]）評価一覧

施設番号	アルシアン青染色[pH2.5]評価			
	A-a	A-b	B	C
9270069		○		
9280001		○		
9280002		○		
9280003	○			
9280012		○		
9280033	○			

9280035	○			
9280038		○		
9280047	○			
9280051	○			
9280060			○	
9280083	○			
9280091	○			
9280092	○			
9280099	○			
9280100		○		
9280115	○			
9280117	○			
9280124	○			
9280125	○			
9280130			○	
9280135	○			
9280140			○	
9280143			○	
9280146		○		
9280147		○		
9280148	○			
9280149			○	
9280153	○			
9280160	○			
9280164		○		
9280169		○		
9280187		○		
9280191	○			
9280209			○	
9280237		○		
9280280		○		
9280322		○		
9280390		○		
9780014	○			
9780032	○			
9780060	○			
9780066	○			

【講評およびまとめ】

令和 6 年度の病理組織サーベイでは、アルシアン青染色 (pH 2.5) をテーマとして評価を行った。

アルシアン青染色 (pH 2.5) の染色枚数は 37 施設がひと月に 0~5 枚であり、平均的に実施数が少ない項目と考えられる。

切片厚は 3~4 μm が 41 施設 (95.3%) と最も多く、1~2 μm が 2 施設 (4.7%) であった。今回は研究班で薄切した標本を送付し、染色を実施していただいたため、切片厚が原因となる染色不良はみられなかった。酸性ムコ物質の染色性は切片厚による大きな差異は出にくい、他の染色と同様、薄いと染色性が弱く、厚いと共染が生じやすくなる。今回実施したアルシアン青染色に限らず、切片厚は染色の標準化において非常に重要な要素であるため、日常業務において染色性に疑問があれば、プロトコールと合わせて検討していただきたい。

染色方法は用手法が 42 施設、自動特殊染色装置 (ベンタナ ベンチマーク SS) が 1 施設であった。アルシアン青染色 (pH 2.5) については、用手法とベンチマーク SS とで明らかな染色性の差は認められなかった。

アルシアン青染色液に入れる前に洗浄を行っている施設は 40 施設 (95.2%)、行っていない施設は 2 施設 (4.8%) であった。この洗浄工程の意義としてはアルシアン青になじみやすくする効果も少なからずあるが、それよりもアルシアン青染色液の pH 変化を抑制して劣化を防ぐことにあるとされている。洗浄時間は短い施設ではなじむ程度、長い施設では 5 分で、26 施設 (61.9%) が 3 分で最も多かったが、染色性に大きな差異を認めなかった。また、洗浄を実施していない施設でも十分な染色性が得られていた。今回の結果からも洗浄工程に染色性を高める効果はそれほどないことが分かるが、アルシアン青染色液を繰り返し使用するのであれば、劣化を防ぐため洗浄を実施することが推奨される。

アルシアン青については、調製済み試薬使用が 34 施設 (81.0%)、自家調製試薬使用が 7 施設 (16.7%)、染色時間は 20~120 分で、30 分が 27 施設 (64.3%) と最も多かった。今回の結果からは、染色時間の長さによる染色性の差異はほとんどないと考えられた。自家調製試薬使用の 7 施設のうち、2 施設が A-a 評価、3 施設が A-b 評価で、色味に多少の差異はあるものの、調製済み染色液と遜色のない染色性であった。また、メーカーによる明らかな差異も見られなかった。一方で、調製済み染色液を使用しても酸性ムコ物質の染色性がかなり弱い施設もあったが、要因の一つとして染色液の劣化が挙げられる。調整済みであっても自家調製であっても劣化が生じる可能性があるので、染色性が弱いと感じた場合は保管状況 (温度・湿度、期間など) にも注意し、必要に応じて改善に努めていただきたい。

分別については、37 施設 (88.1%) が実施、5 施設 (11.9%) が実施していなかった。分別時間はすすぐ程度 (5~10 dip) から最長で 10 分 (5 分 \times 2 槽) であった。分別時間が長くても (3 分 \times 3 槽、5 分 \times 2 槽、など) 軽度の共染を認める施設もあったが、実施していない 5 施設では強弱はあるもののいずれにも共染を認めたことから、より良好な仕上がりを得るためには分別を行うことが推奨される。

核染色については、ケルンエヒロートを_usingしている施設が 38 施設 (90.5%) と最も多く、ヌクレアファーストレッドが 1 施設 (2.4%)、マイヤーヘマトキシリンが 2 施設 (4.8%)、ギルヘマトキシリンが 1 施設 (2.4%) であった。赤色であるケルンエヒロートあるいはヌクレアファーストレッドはアルシアン青とのコントラストが良好であるのに対し、同系色であるヘマトキシリンはややコントラストが弱い印象を受ける。コントラストも染色性を評価する重要な要素の一つなので、可能であれば、病理医と協議していただいた上で、ケルンエヒロートなどへの変更について検討いただければと考える。

今回、酸性ムコ物質の染色性が良好である部分と不良である部分が混在している標本がいくつか見られた。いずれも大部分は染色良好で、一部に染色不良と思われる部分を認めた。これらについては染色ムラとして評

価したが、これらの施設の染色プロトコールに特に気になる点はなく、アンケート回答のみで要因を特定することは困難であった。

酸性ムコ物質の染色性が弱い施設がいくつかあったが、その要因としては前述した染色液の劣化が考えられるが、それ以外に染色液の温度が低い(冷蔵から室温に戻っていない)、ベーキング時間が長い、なども一つの可能性として考えられる。ベーキング時間が長いと粘液類の染色性が減弱する可能性があると考えられているので、染色性が弱い施設についてはベーキング時間にも注意していただきたい。

他に、全体的に色素顆粒や細かいゴミのようなものが目立つ標本も見られた。場合によっては診断に影響を及ぼすこともあり得るので、染色液の濾過や十分な水洗を心がけていただきたい。

特殊染色については、日常業務の中で染色条件を見直したり技術的な工夫を加えたりして、より良い仕上がりを目指すのが現状である。しかし、今回テーマとしたアルシアン青染色(pH 2.5)は比較的単純な染色であることから、基本とされる染色工程の遵守や適切な試薬管理が重要ではないかと考える。

今回 A-a 評価であった施設の染色プロトコール、および今回提出していただいた病理組織標本の写真を評価別に掲載しているので、参考にいただければ幸いである。

【結語】

アルシアン青染色(pH 2.5)の精度管理における結果は、すべての施設が B 評価以上であり、『A-a: 満足すべき標本』および『A-b: 診断上支障のない標本』と判定された施設は 43 施設中、37 施設(86.0%)という良好な結果が得られた。

我々病理・細胞検査研究班は、精度管理および研修会などを通じて、兵臨技に所属する各施設の病理技術の向上および病理組織検査法標準化の推進に貢献できるよう努めていきたいと考える。

最後に職務ご多忙にもかかわらず、精度管理にご参加下さいました各施設の皆様に御礼申し上げます。

(文責: 病理・細胞検査研究班)

アルシアン青染色(pH 2.5)についてのアンケート結果（総数 43）

1. 貴施設では一ヶ月何枚位、アルシアン青染色(pH 2.5)を実施していますか？（回答 43 施設）

染色枚数	施設数	%
0～5 枚	37	86.1
6～10 枚	5	11.6
11～50 枚	1	2.3
51～100 枚	0	0

2. 何 μm で薄切していますか？（回答 43 施設）

薄切厚	施設数	%
1～2 μm	2	4.7
3～4 μm	41	95.3
5～6 μm	0	0
7 μm 以上	0	0

3. 今回貴施設で行った方法を具体的に記入して下さい。

【洗浄(アルシアン青前)】

(用手染色：回答 42 施設*)

洗浄(アルシアン青前)		施設数	%
3%酢酸水	なじむ程度 5～10 秒	5	11.9
	1 分	1	2.4
	3 分	26	61.9
	5 分	7	16.7
50%アルコール	なじむ程度	1	2.4
なし（水洗 ⇒ アルシアン青）		2	4.8

(全自動染色：回答 1 施設)

洗浄(アルシアン青前)	施設数	%
BMK SS 専用 Wash II	1	100

〔酢酸水の調製方法〕(代表的なものから抜粋)

蒸留水 97mL に酢酸 3mL を加える。

【染色】

(用手染色：回答 42 施設*)

染色		施設数	%
アルシアン青 pH 2.5 染色液 (調整済み染色液)	20 分	5 (うち、自家調製 1 施設)	11.9
	25 分	1	2.4
	30 分	27 (うち、自家調製 5 施設)	64.3
	55 分	1	2.4
	60 分	6 (うち、自家調製 1 施設)	14.3
	120 分	1	2.4
	記載なし	1	2.4

(全自動染色：回答 1 施設)

染色		施設数	%
アルシアン青	8 分	1	100

【分別】

(用手染色：回答 42 施設*)

分別		施設数	%
3%酢酸水	1 分未満 (すすぐ程度、5～10 dip、10 dip×3、など)	7	16.7
	背景が抜けるまで	3	7.1
	1 分	1	2.4
	3 分	7	16.7
	2 分×2 槽	1	2.4
	5 分	1	2.4
	3 分×2 槽	5	11.9
	3 分×3 槽	9	21.4
	5 分×2 槽	1	2.4
	記載なし	1	2.4
50%アルコール	余分な染色液が抜けるまで	1	2.4
なし (アルシアン青 ⇒ 水洗)		5	11.9

(全自動染色：回答 1 施設)

分別	施設数	%
なし	1	100

〔酢酸水の調製方法〕(代表的なものから抜粋)

蒸留水 97mL に酢酸 3mL を加える。

【核染色】

(用手染色 : 回答 42 施設*)

核染色		施設数	%
ケルンエヒトロート	2 分	10	23.8
	3 分	11	26.2
	4 分	1	2.4
	5 分	8	19.0
	7 分	1	2.4
	10 分	3	7.1
	15 分	2	4.8
	20 分	2	4.8
ヌクレアファーストレッド	3 分	1	2.4
マイヤーヘマトキシリン	3 分	1	2.4
	5 分	1	2.4
ギルヘマトキシリン	5 分	1	2.4

(全自動染色 : 回答 1 施設)

核染色		施設数	%
ヌクレアファーストレッド	4 分	1	100

4. 今回使用した試薬とメーカー名を記入して下さい。(全自動染色装置専用試薬については省略)

【洗浄・分別（酢酸）】

(用手染色 : 回答 25 施設)

試薬	メーカー	施設数	%
酢酸	富士フィルム和光純薬	13	52.0
	武藤化学	5	20.0
	関東化学	4	16.0
	シグマアルドリッチジャパン	2	8.0
	片山化学	1	4.0

【アルシアン青(pH 2.5)】

(用手染色 : 回答 40 施設)

試薬	メーカー	施設数	%
アルシャンブルー染色液 pH 2.5(組織用) (調製済み)	武藤化学	32	80.0
アルシャンブルー染色液 顕微鏡用 (調製済み)	メルク	1	2.5
アルシアンブルー 8GX (自家調製)	Electron Microscopy Sciences	2	5.0
	シグマアルドリッチジャパン	2	5.0
	メルク	1	2.5
	富士フイルム和光純薬	1	2.5
	MCB REAGENTS	1	2.5

【核染色】

(用手染色 : 回答 38 施設)

試薬	メーカー	施設数	%
ケルンエヒロート液 (調製済み)	武藤化学	31	81.6
ケルンエヒロート (自家調製)	メルク	1	2.6
	記載なし	2	5.3
ヌクレアファーストレッド	富士フイルム和光純薬	1	2.6
マイヤーヘマトキシリン染色液	林純薬	2	5.3
ギル・ヘマトキシリン 5	武藤化学	1	2.6

《A-a 評価プロトコール(用手法)》

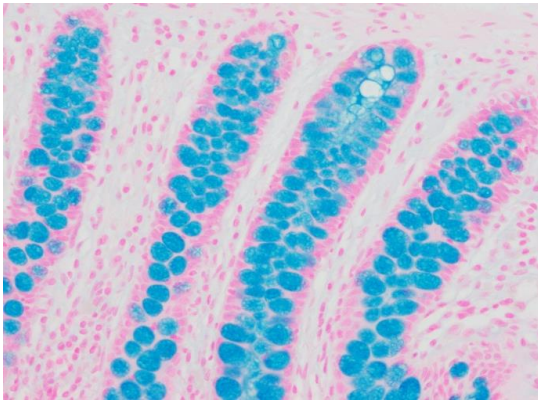
① 脱パラフィン	キシレン：4分×3槽 ⇒ 100%アルコール：1分×4槽
② 洗浄	流水水洗 3分
③ 洗浄	3%酢酸水 3分
④ アルシアン青	アルシアン青 pH 2.5 染色液 30分
⑤ 分別	3%酢酸水 3分×3槽
⑥ 洗浄	流水水洗 3分
⑦ 核染色	ケルンエヒトロート 3分
⑧ 洗浄	流水水洗 軽く洗い流す程度
⑨ 脱水・透徹	100%アルコール：1分×2槽、2分×3槽 ⇒ キシレン：2分×3槽

《A-a プロトコール(自動染色装置使用)》

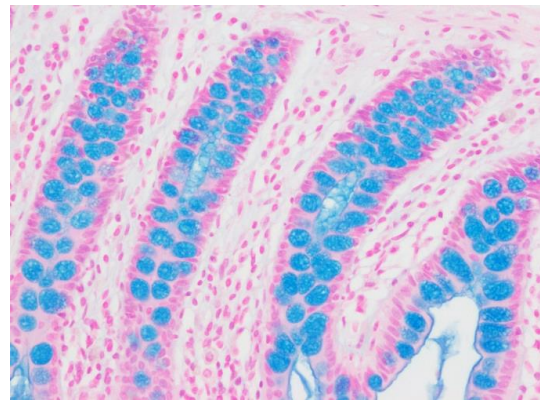
* ユーザーで変更可能な工程のみ記載（染色工程途中の水洗等は省略）

④ アルシアン青	アルシアン青 8分
⑤ 分別	なし
⑦ 核染色	ヌクレアファストレッド 4分

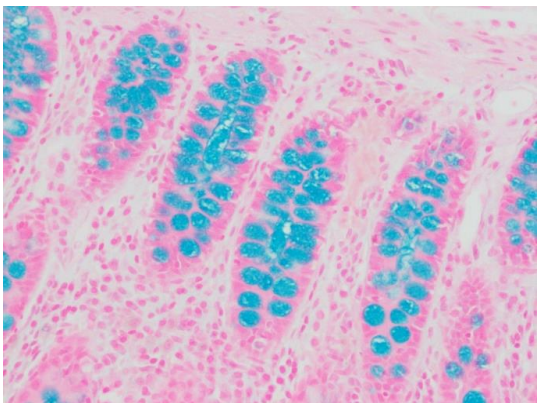
病理検査サーベイ：アルシアン青染色 (pH 2.5)



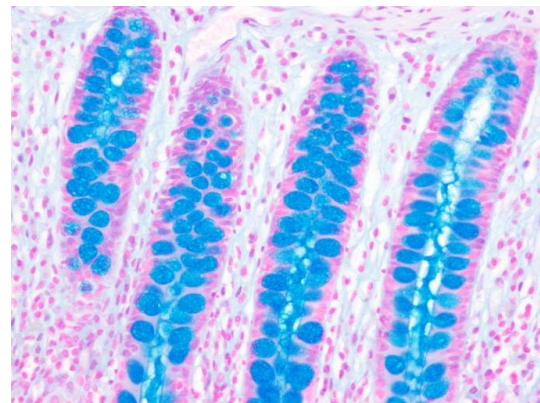
A-a 評価：調製済み染色液



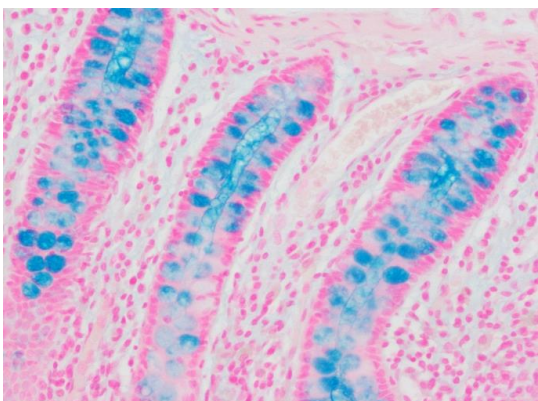
A-a 評価：自家調製染色液



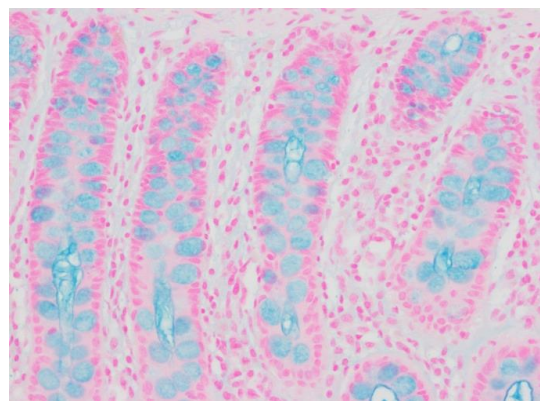
A-a 評価：自動染色装置



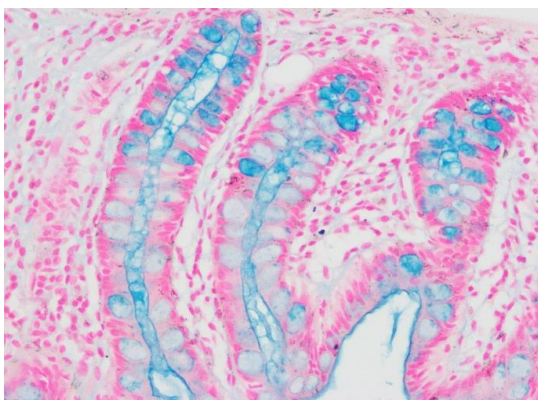
A-b 評価：自家調製染色液
共染（分別工程なし）



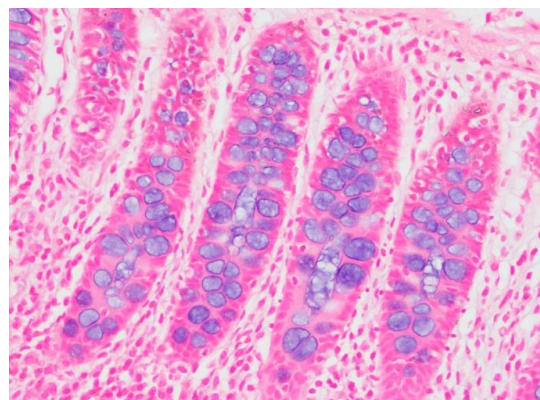
A-b 評価：調製済み染色液
染色ムラ（他の部位ではA-a 評価と同等）



B 評価：調製済み染色液
染色性が弱い



B 評価：調製済み染色液
染色性が弱い、染色ムラ、色素・ゴミが目立つ



B 評価：自家調製染色液
染色ムラ、後染色が強くコントラストが悪い

⑭免疫組織化学染色（CD3）

【はじめに】

CD分類とは、ヒト白血球を主としたさまざまな細胞表面に存在する表面抗原に結合するモノクローナル抗体の国際分類である。CDとはcluster of differentiation の頭文字で、訳すと「分化抗原群」であり、白血球分化に関わる抗原分子に対するモノクローナル抗体をクラスタ解析（群解析）で分類したことから名付けられた。白血球やその他の細胞は、細胞表面に糖タンパクなどでできたさまざまな分子を発現しており、この分子の違いを見分けることで細かい細胞の違いを識別することができる。現在では血小板、赤血球、血管内皮細胞などの分化抗原にも拡大されるとともに、細胞内の抗原にも適用されはじめています。

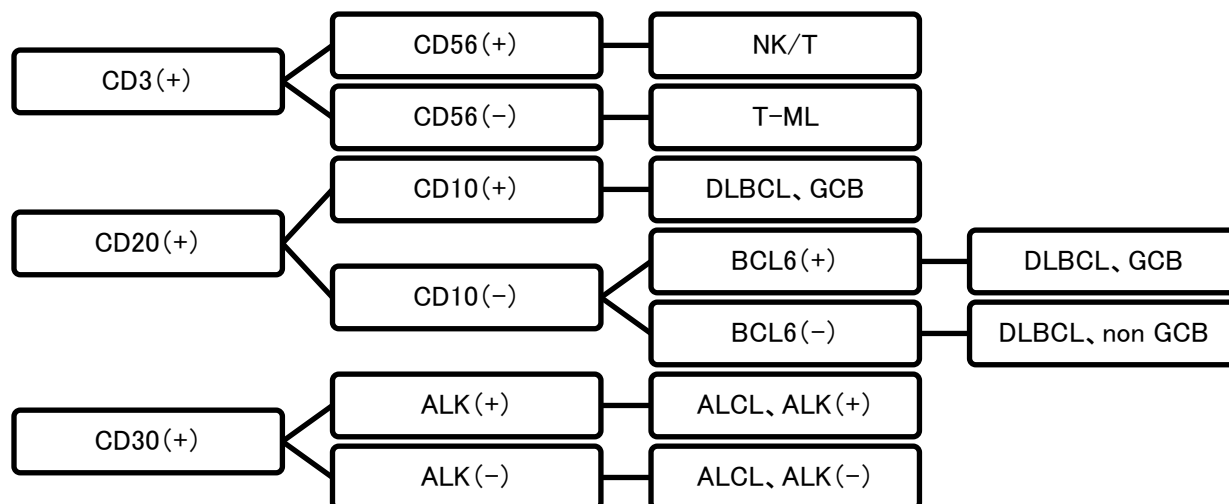
CD3抗原は分子量26,000の糖タンパク（ γ ）、22,000の糖タンパク（ δ ）、糖鎖を含まない16,000のタンパク質（ ϵ ）などで構成されている。遺伝子は染色体11q23および1q22-q23に存在し、Ti分子と抗原の結合による情報を細胞内へ伝達する機能を持つ。

CD3は最も信頼できるT細胞性マーカーの一つである。染色パターンとしては細胞質、ゴルジ野や核周囲に強い陽性像を示す場合がある。まれに細胞膜が染まる。推奨される陽性コントロールは扁桃、リンパ節、虫垂などがある。CD3は、成熟T細胞のマーカーで、正常末梢血リンパ球の51～87 %および胸腺細胞の65～85 %で検出される。また、CD3陽性細胞は小脳のプルキンエ細胞にも存在する。CD3のモノクローナル抗体はT細胞レセプター関連抗原を識別し、T細胞に対してマイトジェニックに作用する。同時にキラー活性、ヘルパー活性など種々の反応相においてT細胞機能をブロックする。通常CD3は成熟T細胞のマーカーとして用いられる。CD3分子のcytoplasmic ϵ chainに対する抗体である。通常の診断用途で用いられている“CD3”は通常CD3 ϵ を指す。悪性リンパ腫診断にはルーチンで用いられる。UCL-1は比較的特異度が低く、T細胞マーカーとしての用途ではCD3の方が優れており、T細胞性リンパ腫の診断には最も基本的な抗体である。正常であれば濾胞間領域に多数、胚中心にも比較的多数存在している。T細胞リンパ腫とNK細胞リンパ腫の診断に用いられる。

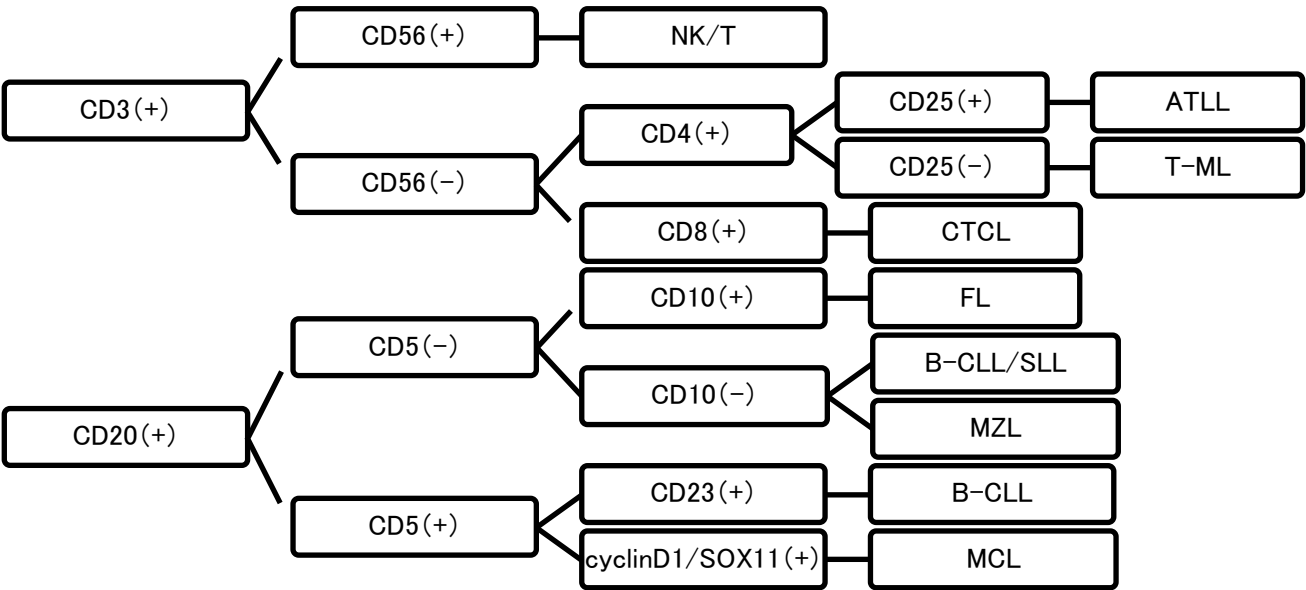
CD3は細胞質に染色され、影絵の様に核の形状が明瞭化される。これにより、T細胞性リンパ腫の際の核の大小不同、切れ込みなどの異型をよく判断することができる。

（一般社団法人ひょうご病理ネットワーク いむーの「CD3」の項を参照）

大型異型リンパ球が集簇性増生する場合のアルゴリズム



小型細胞が集簇性に増生する場合のアルゴリズム



NK-T: NK/Tリンパ腫、T-ML: T細胞性リンパ腫、DLBCL: びまん性大細胞型B細胞性リンパ腫、GCB: 胚中心型、non GCB: 非胚中心型、ALCL: 未分化大細胞リンパ腫、ATLL: 成人T細胞異リンパ腫、CTCL: 皮膚T細胞性リンパ腫、FL: 濾胞性リンパ腫、B-CLL: 慢性Bリンパ球性白血病、SLL: 小リンパ球性リンパ腫、MZL: 辺縁帯リンパ腫、MCL: マントル細胞リンパ腫

(免疫染色究極マニュアル「悪性リンパ腫浸潤の評価」の項より抜粋)

主な成熟T/NK細胞リンパ腫の特徴

	主な病変部位	CM	EBV	主な免疫表現型
血管免疫芽球性T細胞リンパ腫 (AITL)	リンパ節	－	－	CD4+、CD8-、TFHマーカー (PD1、BCL6など)+
成人T細胞白血病/リンパ腫 (ATLL)	白血化、全身性	－	－	CD4+、CD8-、CD7-、CCR4+
菌状息肉症 (MF)	皮膚	－	－	CD4+、CD8-
末梢性T細胞リンパ腫、非特定型 (PTCL-NOS)	リンパ節	一部+	－*	不定
節外性NK/T細胞リンパ腫・鼻型 (ENKTL)	上気道、節外	+	+	CD56+、CD4-、CD8-
未分化大細胞リンパ腫 (ALCL)、ALK+	リンパ節/節外	+	－	CD30+、ALK+
未分化大細胞リンパ腫 (ALCL)、ALK-	リンパ節	主に+	－	CD30+、ALK-

CM, 細胞傷害性分子; TFH, T濾胞ヘルパー細胞

* WHO分類第5版ではEBV+nodal T-and NK-cell lymphomaがPTCL-NOSから独立

(加藤省一 : WHO血液腫瘍分類第5版と成熟T/NK細胞リンパ腫の分類, 現代医学 2023; 70(2) : 93-96.)

【試料および方法】

今回使用した試料は扁桃で、未染色標本を各施設に2枚配布し、染色を実施していただいた。また、染色工程により染色結果に差異が生じる可能性があるため、アンケート形式の報告書をウェブ上で公開し、各施設で現在行っている工程の入力もお願いした。

なお、免疫染色試薬販売メーカーであるロシュ・ダイアグノスティックス株式会社（以下、ロシュ社）、ライカマイクロシステムズ株式会社（以下、ライカ社）、ニチレイバイオサイエンス株式会社（以下、ニチレイ社）、アジレント・テクノロジー株式会社（以下、アジレント社）の4社にも同一検体を配布し、染色を実施していただき、その染色性を評価の基準とした。一次抗体の各メーカーにおけるクローンは後述のとおり、ロシュ社は「2GV6」、ライカ社は「LN10」、ニチレイ社は「PS1」と「SP7」、アジレント社は「F7.2.38」であった（以下、ニチレイ社以外のクローン名は割愛する）。

【参加施設数】

今回のCD3染色のサーベイには40施設に参加していただいた。

【解析方法】

下記の事項について評価し、減点法で判定した。

- ① 目的とする細胞、部位が染色されているか。
- ② 染色ムラや非特異反応がないか。
- ③ カウンター染色とのコントラストが良好であるか。

兵臨技 病理・細胞検査研究班 解析委員（8人）で慎重に評価を行い、病理医の立場から、伊藤 智雄 先生（神戸大学医学部附属病院 病理部）にご確認いただいた。

【評価基準】

評価は、『A：診断上支障のない標本』、『B：診断上支障はないが、改善が必要な標本』、『C：診断上支障をきたす標本』とした。基準は以下のとおりである。

A 評価：「診断上支障のない標本」

目的とする細胞・部位が適切に染色され、染色ムラや非特異反応などを認めない。カウンター染色とのコントラストが良好である。

B 評価：「診断上支障はないが、改善が必要な標本」

目的とする細胞・部位が染色されており、診断に大きな影響はないが、染色性の強弱、染色ムラや非特異反応を認める。カウンター染色とのコントラストに軽度の問題を認める。

C 評価：「診断上支障をきたす標本」

目的とする細胞・部位が染色されていない。または診断に影響のある染色ムラや非特異反応を認める。カウンター染色とのコントラストに問題を認める。

【解析結果】

〔染色についてのアンケート集計〕

申し込み施設40施設に対し、アンケート回収施設40施設(100%)であった。

集計結果は別表に示すとおりである。

〔染色の評価結果〕

参加施設の評価結果を表1に示す。

- ・『A : 診断上支障のない標本』と判定された施設は31施設(77.5%)であった。
- ・『B : 診断上支障はないが、改善が必要な標本』と判定された施設は8施設(20.0%)であった。
- ・『C : 診断上支障をきたす標本』と判定された施設は1施設(2.5%)であった。

表1 免疫染色 (CD3) 評価結果

判定	A: 診断上支障のない標本	B: 診断上支障はないが、 改善が必要な標本	C: 診断上支障をきたす標本
標本数	31	8	1
(%)	77.5 %	20.0 %	2.5 %

【参加施設評価一覧】

参加施設の評価一覧を表2に示す。

表2 免疫染色（CD3）評価一覧

施設番号	評価	寸評
9270069	A	
9280001	A	
9280002	B	場所により染色性が弱い
9280003	C	染色性が非常に弱い
9280033	A	
9280035	A	
9280038	A	
9280047	A	
9280051	B	場所により染色性が弱い ヘマトキシリンの染色性が強いためコントラストが不良
9280059	A	
9280060	B	染色性が弱い
9280083	A	
9280091	A	
9280092	A	
9280095	A	
9280099	A	
9280100	A	
9280115	A	軽度の非特異反応を認める
9280117	A	
9280124	A	
9280125	A	
9280130	B	場所により染色性が弱い
9280135	A	
9280140	A	
9280146	A	
9280148	A	扁平上皮に非特異反応あり
9280149	A	
9280164	B	場所により染色性が弱い
9280169	B	場所により染色性が弱い
9280187	B	染色性が弱い
9280209	A	
9280237	A	
9280280	A	
9280322	A	
9280390	B	染色性が弱い
9280417	A	
9780014	A	
9780032	A	
9780060	A	
9780066	A	

【講評およびまとめ】

令和6年度の免疫組織化学染色サーベイでは、CD3をテーマとして行った。

染色強度や陽性率、染色ムラ、非特異的反応、切片剥離などについて染色方法（一次抗体メーカーのではなく、染色方法と二次抗体・発色基質）が同じメーカーの染色性と比較し、遜色のない染色を「A」、染色強度が弱すぎるまたは強すぎる、切片の剥離や細胞形態の異常を認めた染色を「B」、陽性所見を認めない、または非特異的反応が強すぎるなど診断に影響がある染色を「C」として評価した。また、非特異的反応は一次抗体メーカーの染色性と比較し同等の反応を示した場合は、非特異的反応としてとらえないこととした。今回の評価結果は「A」が31施設、「B」が8施設、「C」が1施設という結果であった。

「B」評価であった施設は、一次抗体メーカーと比較して全体的に染色性が弱かった施設が3施設、場所により染色性が弱かった施設が4施設、場所により染色性が弱く、またヘマトキシリン染色が強いいためコントラストが不良であった施設が1施設の合計8施設であった。全体的に染色性が弱かった3施設のうち、1施設はライカ社の自動免疫染色装置で、ライカ社の抗体を使用していたが、「A」評価の施設と比べて希釈倍率が高かった。他2施設は用手法で、ニチレイ社のSP7のクローンを使用していた。推奨プロトコール通りであり、特に抗体も希釈していないことから、染色性が弱い原因は不明であるが、この2施設は前回のCD20の時も同様の賦活化処理で「A」評価であったことから、賦活化処理以外に原因があると考えられた。場所により染色性が弱かった施設が4施設のうち、3施設はロシュ社の自動染色装置で、別メーカーの抗体を使用していた。ライカ社とアジレント社の抗体を使用していた施設は「A」評価の施設に比べ、希釈倍率が高かった。また、ライカ社の抗体を使用していたもう1施設は、希釈済み抗体を使用していたが、他にロシュ社の自動染色装置でライカ社の希釈済み抗体を使用していた施設が無かったことから、ロシュ社の自動染色装置でライカ社の希釈済み抗体を使用すると場所により染色性が弱くなる可能性があると考えられた。4施設目はライカ社の自動染色装置で、アジレント社の抗体を使用して染色していた。抗体の希釈倍率は不明であったことから、他の「A」評価の施設より希釈倍率が高い可能性が考えられた。場所により染色性が弱く、またヘマトキシリン染色が強いいためコントラストが不良であった1施設は用手法で、ニチレイ社のPS1のクローンを使用していた。賦活化処理はマイクロウェーブ（以下、MV）で行われていた。推奨プロトコール通りであり、特に抗体も希釈していないことから、染色性が弱い原因は不明であるが、この施設は前回のCD20のときも「B」評価であったことから、賦活化処理も原因の一要因であると考えられた。

MVは抗原賦活化の加熱方法として周知されており、過去によく利用されていたが、現在では加熱ムラや吹きこぼれの可能性があること、処理枚数に制限があり、処理枚数に応じた照射条件の調整が必要であるなどの難点があることから利用施設は減少傾向にある。なお、電子レンジ処理の効果は、MVそのものより照射によって生じる熱によると考えられている。他に加熱方法としては、オートクレーブ、圧力鍋、温浴槽、ホットプレート、電気ポットなどがある。オートクレーブ法や圧力鍋法は加熱効果が高いとされているが、オートクレーブ法は時間がかかるうえ、組織・細胞の形態への損害が生じやすいなどの欠点があるため、圧力鍋法が推奨される。

（鴨志田伸吾：免疫染色 至適条件決定法，学際企画 参照）

「C」評価であった1施設は、ロシュ社の自動染色装置で、アジレント社の抗体を使用していた。希釈倍率は25倍となっていたが、同抗体で希釈倍率が50倍の「A」評価の施設より染色性が弱かったため、希釈済み抗体を希釈した可能性が考えられた。

CD3はリンパ腫の病理診断にとって非常に重要な抗体であるため、染色性の強度が診断や治療に影響する。そのため、染色性に関しては必ず病理医に相談する必要がある。また、CD3については体外診断薬であり、原則として各メーカーの推奨プロトコールで染色を実施することが望まれ、改善のためであってもプロトコールの変

更には慎重に行わなければならない。今回のサーベイでは、染色装置・染色キットと一次抗体について異なるメーカーの組み合わせで染色している施設が16施設であった。今回のサーベイにおいては「A」評価であり、診断上支障のない染色性であった施設でも病理医と相談のうえ、推奨プロトコルへの変更を検討していただければと考える。また、それ以外の「B」評価、「C」評価の施設においては、病理医と十分に相談したうえ、可能な限り染色性の改善に努めていただくことが望まれる。

【結語】

CD3 の染色性における精度管理の結果は、参加していただいた 40 施設中、39 施設で『診断上支障のない標本』という良好な結果が得られた。

我々病理・細胞検査研究班は、今後も、精度管理および研修会などを通じて、兵臨技に所属する各施設の免疫染色の精度向上に貢献できるよう努めていきたいと考える。

最後に職務ご多忙中にもかかわらず、精度管理にご参加下さいました各施設の皆様に御礼申し上げます。

（文責：病理・細胞検査研究班）

CD3 染色方法についての集計

1. 貴施設では1ヶ月何枚位、CD3 染色を実施していますか。

染色枚数	施設数	%
10 枚以下	23	57.5
11～30 枚	14	35.0
31～50 枚	2	5.0
51 枚以上	1	2.5

2. 何 μm で薄切していますか。

厚さ (μm)	施設数	%
2	1	2.5
～3	14	35.0
～4	23	57.5
～5	2	5.0

3. 今回貴施設で行った方法を下記の欄に具体的に記入して下さい。

(1) 染色方法

染色方法	施設数	%
自動染色装置	36	90.0
用手法	4	10.0

染色装置メーカー	染色装置名	施設数	%
ロシュ	ベンチマーク XT	1	2.8
	ベンチマーク GX	8	22.2
	ベンチマーク ULTRA	13	36.2
ライカ	BOND MAX	8	22.2
	BOND III	5	13.8
ニチレイ	HISTOSTAINER 36A	1	2.8

(2) 使用試薬

【一次抗体(クローン)】

メーカー名	クローン	自動染色施設数	用手法施設数	合計施設数	%
アジレント	F7.2.38	5	1	6	15.0
アジレント	-	1	0	1	2.5
ロシュ	2GV6	15	0	15	37.5
ライカ	LN10	11	0	11	27.5
ニチレイ	PS1	3	1	4	10.0
ニチレイ	SP7	1	2	3	7.5

【二次抗体・発色基質】

メーカー名	キット名	自動染色 施設数	用手法 施設数	合計 施設数	%
ロシュ	ultraView DAB ユニバーサルキット	22	0	22	55.0
ライカ	Bond Polymer Refine Detection	13	0	13	32.5
ニチレイ	ヒストファイン シンプルステイン MAX-PO (MULTI)	1	4	5	12.5

(3) 染色プロトコール

【抗原賦活化】

メーカー名	抗原賦活化	自動染色施設数	用手法 施設数
ロシュ	加熱処理 CC1 buffer (pH 8.5) 60 分 or 64 分	20	0
	加熱処理 CC1 buffer (pH 8.5) 32 分 or 30 分	2	0
ライカ	加熱処理 ER2(pH 9.0) 20 分	13	0
ニチレイ	加熱処理 ヒストファイン抗原賦活化液 pH 9.0	1	4

【一次抗体】

染色法	一次抗体 メーカー	一次抗体 希釈倍率	反応時間	施設数
ロシュ 染色装置	ロシュ	希釈済み	15分or 16分	13
		希釈済み	30 分 or 32 分	1
	アジレント	希釈済み	30 分 or 32 分	2
		25 倍	15 分 or 16 分	1
		50 倍	30 分 or 32 分	1
		100 倍	30 分 or 32 分	1
	ライカ	希釈済み	15 分 or 16 分	2
		200 倍	30 分 or 32 分	1
ライカ 染色装置	ライカ	希釈済み	15 分	3
		100 倍	15 分	2
		500 倍	15 分	1
		不明	15 分	1
	ニチレイ	希釈済み	15 分	4
	アジレント	50 倍	15 分	1
		不明	15 分	1
ニチレイ 染色装置	ニチレイ	希釈済み	30 分	1
用手法	ニチレイ	希釈済み	30 分	3
	アジレント	50 倍	30 分	1

【カウンター染色】

染色法	染色液	反応時間	施設数
ロシュ 染色装置	自動染色装置のヘマトキシリン	8 分	12
		12 分	4
		不明	5
	調整済みヘマトキシリン (自動染色装置用を除く)	30 秒	1
ライカ 染色装置	自動染色装置のヘマトキシリン	5 分	4
		10 分	1
		不明	8
ニチレイ 染色装置	調整済みヘマトキシリン (自動染色装置用を除く)	2 分	1
用手法	自動染色装置のヘマトキシリン	10 秒	1
	調整済みヘマトキシリン (自動染色装置用を除く)	2 分	1
		不明	1
		自家調整ヘマトキシリン	2 分

次ページに各施設の染色方法、使用試薬、染色プロトコールおよび今回の評価をまとめた表を示す。一次抗体のクローン、一次抗体の反応温度、二次抗体の反応温度・反応時間などは染色装置や染色キットによってほぼ決まっているため省略した。また、入力漏れがあった部分は空白や記載なしとしている。

【各施設の染色方法、使用試薬、染色プロトコルおよび評価】

施設No	染色方法 (染色装置)	染色キット	抗原賦活化		一次抗体 メーカー	一次抗体希釈倍率	一次抗体反応時間	カウンター染色	カウンター染色 反応時間	評価	寸評
Roche 補綴プロトコル	Roche ペンチマーク	ultraView DAB エコ [®] -4Hキット	CC1 [®] 1 [®] 777 [®] - [pH8.5]	【ロシユ】 64分 (60分も含む)	ロシユ	希釈済み (そのまま使用)	【ロシユ】 16分 (15分も含む)	自動染色装置専用ヘマトキシリン (どのメーカーでもこれを選択)	8分		
9270069	ペンチマークXT	ultraView DAB エコ [®] -4Hキット	CC1 [®] 1 [®] 777 [®] - [pH8.5]	【ロシユ】 64分 (60分も含む)	ロシユ	希釈済み (そのまま使用)	【ロシユ】 16分 (15分も含む)	自動染色装置専用ヘマトキシリン (どのメーカーでもこれを選択)	8分	A	
9280146	ペンチマークULTRA (PLUSも含む)	ultraView DAB エコ [®] -4Hキット	CC1 [®] 1 [®] 777 [®] - [pH8.5]	【ロシユ】 64分 (60分も含む)	ロシユ	希釈済み (そのまま使用)	【ロシユ】 16分 (15分も含む)	自動染色装置専用ヘマトキシリン (どのメーカーでもこれを選択)	8分	A	
9280125	ペンチマークULTRA (PLUSも含む)	ultraView DAB エコ [®] -4Hキット	CC1 [®] 1 [®] 777 [®] - [pH8.5]	【ロシユ】 64分 (60分も含む)	ロシユ	希釈済み (そのまま使用)	【ロシユ】 16分 (15分も含む)	自動染色装置専用ヘマトキシリン (どのメーカーでもこれを選択)	8分	A	
9280083	ペンチマークULTRA (PLUSも含む)	ultraView DAB エコ [®] -4Hキット	CC1 [®] 1 [®] 777 [®] - [pH8.5]	【ロシユ】 64分 (60分も含む)	アジレント	希釈済み (そのまま使用)	【ロシユ】 32分 (30分も含む)	自動染色装置専用ヘマトキシリン (どのメーカーでもこれを選択)		A	
9280100	ペンチマークULTRA (PLUSも含む)	ultraView DAB エコ [®] -4Hキット	CC1 [®] 1 [®] 777 [®] - [pH8.5]	【ロシユ】 64分 (60分も含む)	ロシユ	希釈済み (そのまま使用)	【ロシユ】 16分 (15分も含む)	自動染色装置専用ヘマトキシリン (どのメーカーでもこれを選択)	8分	A	
9280148	ペンチマークULTRA (PLUSも含む)	ultraView DAB エコ [®] -4Hキット	CC1 [®] 1 [®] 777 [®] - [pH8.5]	【ロシユ】 64分 (60分も含む)	アジレント	希釈済み (そのまま使用)	【ロシユ】 32分 (30分も含む)	自動染色装置専用ヘマトキシリン (どのメーカーでもこれを選択)		A	扁平上皮に非特異反応あり
9280092	ペンチマークULTRA (PLUSも含む)	ultraView DAB エコ [®] -4Hキット	CC1 [®] 1 [®] 777 [®] - [pH8.5]	【ロシユ】 64分 (60分も含む)	ロシユ	希釈済み (そのまま使用)	【ロシユ】 16分 (15分も含む)	自動染色装置専用ヘマトキシリン (どのメーカーでもこれを選択)	8分	A	
9280280	ペンチマークULTRA (PLUSも含む)	ultraView DAB エコ [®] -4Hキット	CC1 [®] 1 [®] 777 [®] - [pH8.5]	【ロシユ】 64分 (60分も含む)	ロシユ	希釈済み (そのまま使用)	【ロシユ】 16分 (15分も含む)	自動染色装置専用ヘマトキシリン (どのメーカーでもこれを選択)	8分	A	
9280237	ペンチマークULTRA (PLUSも含む)	ultraView DAB エコ [®] -4Hキット	CC1 [®] 1 [®] 777 [®] - [pH8.5]	【ロシユ】 64分 (60分も含む)	ロシユ	希釈済み (そのまま使用)	【ロシユ】 16分 (15分も含む)	自動染色装置専用ヘマトキシリン (どのメーカーでもこれを選択)	8分	A	
9280003	ペンチマークULTRA (PLUSも含む)	ultraView DAB エコ [®] -4Hキット	CC1 [®] 1 [®] 777 [®] - [pH8.5]	【ロシユ】 64分 (60分も含む)	アジレント	25倍希釈	【ロシユ】 16分 (15分も含む)	自動染色装置専用ヘマトキシリン (どのメーカーでもこれを選択)	12分	C	染色性が非常に弱い
9280130	ペンチマークULTRA (PLUSも含む)	ultraView DAB エコ [®] -4Hキット	CC1 [®] 1 [®] 777 [®] - [pH8.5]	【ロシユ】 64分 (60分も含む)	ライカ	200倍希釈	【ロシユ】 32分 (30分も含む)	自動染色装置専用ヘマトキシリン (どのメーカーでもこれを選択)	12分	B	場所により染色性が弱い
9280002	ペンチマークULTRA (PLUSも含む)	ultraView DAB エコ [®] -4Hキット	CC1 [®] 1 [®] 777 [®] - [pH8.5]	【ロシユ】 64分 (60分も含む)	アジレント	100倍希釈	【ロシユ】 32分 (30分も含む)	自動染色装置専用ヘマトキシリン (どのメーカーでもこれを選択)	8分	B	場所により染色性が弱い
9280140	ペンチマークULTRA (PLUSも含む)	ultraView DAB エコ [®] -4Hキット	CC1 [®] 1 [®] 777 [®] - [pH8.5]	【ロシユ】 64分 (60分も含む)	ロシユ	希釈済み (そのまま使用)	【ロシユ】 32分 (30分も含む)	自動染色装置専用ヘマトキシリン (どのメーカーでもこれを選択)		A	
9280033	ペンチマークULTRA (PLUSも含む)	ultraView DAB エコ [®] -4Hキット	CC1 [®] 1 [®] 777 [®] - [pH8.5]	【ロシユ】 64分 (60分も含む)	ロシユ	希釈済み (そのまま使用)	【ロシユ】 16分 (15分も含む)	自動染色装置専用ヘマトキシリン (どのメーカーでもこれを選択)	8分	A	
9280095	ペンチマークGX	ultraView DAB エコ [®] -4Hキット	CC1 [®] 1 [®] 777 [®] - [pH8.5]	【ロシユ】 64分 (60分も含む)	ロシユ	希釈済み (そのまま使用)	【ロシユ】 16分 (15分も含む)	自動染色装置専用ヘマトキシリン (どのメーカーでもこれを選択)	機械設定	A	
9280209	ペンチマークGX	ultraView DAB エコ [®] -4Hキット	CC1 [®] 1 [®] 777 [®] - [pH8.5]	【ロシユ】 64分 (60分も含む)	ライカ	希釈済み (そのまま使用)	【ロシユ】 16分 (15分も含む)	自動染色装置専用ヘマトキシリン (どのメーカーでもこれを選択)	8分	A	
9780066	ペンチマークGX	ultraView DAB エコ [®] -4Hキット	CC1 [®] 1 [®] 777 [®] - [pH8.5]	【ロシユ】 64分 (60分も含む)	ロシユ	希釈済み (そのまま使用)	【ロシユ】 16分 (15分も含む)	調剤済みヘマトキシリン (自動染色装置専用を除く)	後染30秒行 い、お湯にて 色出し	A	
9280149	ペンチマークGX	ultraView DAB エコ [®] -4Hキット	CC1 [®] 1 [®] 777 [®] - [pH8.5]	【ロシユ】 32分 (30分も含む)	ロシユ	希釈済み (そのまま使用)	【ロシユ】 16分 (15分も含む)	自動染色装置専用ヘマトキシリン (どのメーカーでもこれを選択)		A	
9280035	ペンチマークGX	ultraView DAB エコ [®] -4Hキット	CC1 [®] 1 [®] 777 [®] - [pH8.5]	【ロシユ】 64分 (60分も含む)	ロシユ	希釈済み (そのまま使用)	【ロシユ】 16分 (15分も含む)	自動染色装置専用ヘマトキシリン (どのメーカーでもこれを選択)	12分	A	
9280164	ペンチマークGX	ultraView DAB エコ [®] -4Hキット	CC1 [®] 1 [®] 777 [®] - [pH8.5]	【ロシユ】 32分 (30分も含む)	ライカ	希釈済み (そのまま使用)	【ロシユ】 16分 (15分も含む)	自動染色装置専用ヘマトキシリン (どのメーカーでもこれを選択)	8分	B	場所により染色性が弱い
9280099	ペンチマークGX	ultraView DAB エコ [®] -4Hキット	CC1 [®] 1 [®] 777 [®] - [pH8.5]	【ロシユ】 32分 (30分も含む)	ロシユ	希釈済み (そのまま使用)	【ロシユ】 16分 (15分も含む)	自動染色装置専用ヘマトキシリン (どのメーカーでもこれを選択)	12分	A	
9280001	ペンチマークGX	ultraView DAB エコ [®] -4Hキット	CC1 [®] 1 [®] 777 [®] - [pH8.5]	【ロシユ】 64分 (60分も含む)	アジレント	50倍希釈	【ロシユ】 32分 (30分も含む)	自動染色装置専用ヘマトキシリン (どのメーカーでもこれを選択)	8分	A	

施設No	染色方法 (染色装置)	染色キット	抗原配活化	一次抗体 メーカー	一次抗体希釈倍率	一次抗体反応時間	カウンター染色 反応時間	評価	寸評
ニチレイ 推奨プロトコール	HISTOSTAINER 36A	ヒスト staiナ 36A / MAX- PO(MULTI)・DAB基質ハット	【HEAT PRO II (過熱処理)】 40分	ニチレイ	希釈済み (そのまま使用)	【ニチレイ】 30分	30秒		
9280135	HISTOSTAINER 36A	ヒスト staiナ 36A / MAX- PO(MULTI)・DAB基質ハット	過熱槽 40分	ニチレイ	希釈済み (そのまま使用)	【ニチレイ】 30分	2分	A	
Leica 推奨プロトコール	Leica BOND	Bond Polymer Refine Detection	【ライカ】 20分	ライカ	希釈済み (そのまま使用)	【ライカ】 15分	5分		
9280059	BOND MAX	Bond Polymer Refine Detection	【ライカ】 20分	ニチレイ	希釈済み (そのまま使用)	【ライカ】 15分		A	
9280322	BOND MAX	Bond Polymer Refine Detection	【ライカ】 20分	ライカ	100倍希釈	【ライカ】 15分	5分	A	
9280169	BOND MAX	Bond Polymer Refine Detection	【ライカ】 20分	アジレント	その他	【ライカ】 15分		B	場所により染色性が弱い
9280124	BOND MAX	Bond Polymer Refine Detection	【ライカ】 20分	ライカ	100倍希釈	【ライカ】 15分		A	
9280038	BOND MAX	Bond Polymer Refine Detection	【ライカ】 20分	ニチレイ	希釈済み (そのまま使用)	【ライカ】 15分	-	A	
9280417	BOND MAX	Bond Polymer Refine Detection	【ライカ】 20分	ニチレイ	希釈済み (そのまま使用)	【ライカ】 15分	5分	A	
9280047	BOND MAX	Bond Polymer Refine Detection	【ライカ】 20分	ライカ	希釈済み (そのまま使用)	【ライカ】 15分	5分	A	
9780014	BOND MAX	Bond Polymer Refine Detection	【ライカ】 20分	ライカ	その他	【ライカ】 15分	5分	A	
9280117	BOND III	Bond Polymer Refine Detection	【ライカ】 20分	ライカ	希釈済み (そのまま使用)	【ライカ】 15分		A	
9280091	BOND III	Bond Polymer Refine Detection	【ライカ】 10分	アジレント	50倍希釈	【ライカ】 15分	10分	A	
9280390	BOND III	Bond Polymer Refine Detection	【ライカ】 20分	ライカ	500倍希釈	【ライカ】 15分		B	染色性が弱い
9780060	BOND III	Bond Polymer Refine Detection	【ライカ】 20分	ライカ	希釈済み (そのまま使用)	【ライカ】 15分	5分	A	
9780032	BOND III	Bond Polymer Refine Detection	【ライカ】 20分	ニチレイ	希釈済みを3倍希釈	【ライカ】 15分		A	
ニチレイ 推奨プロトコール	用手法	ヒスト staiナ SAB-PO (MULTI) キット	過熱槽 40分	ニチレイ	希釈済み (そのまま使用)	【ニチレイ】 30分	30秒		
9280115		ヒスト staiナ 36A / MAX- PO(M)・DAB基質ハット	過熱槽 40分	アジレント	50倍希釈	【ニチレイ】 30分	10秒	A	軽度の非特異反応を認める
9280051		ヒスト staiナ 36A / MAX- PO(M)・DAB基質ハット	MW	ニチレイ	希釈済み (そのまま使用)	【ニチレイ】 30分	3分	B	場所により染色性が弱く、ヘマトキシリンの 染色性が強いいためコントラストが不良
9280187		ヒスト staiナ 36A / MAX- PO(M)・DAB基質ハット	電気ポット 30分	ニチレイ	希釈済み (そのまま使用)	【ニチレイ】 30分	2分	B	染色性が弱い
9280060		ヒスト staiナ 36A / MAX- PO(M)・DAB基質ハット	過熱槽 40分	ニチレイ	希釈済み (そのまま使用)	【ニチレイ】 30分		B	染色性が弱い
アジレント 推奨プロトコール	ダコ Omnis	ダコ EnVision FLEX, High pH (ダコ Omnis用) + ダコ EnVision FLEX+ ラビビット トリンカー (ダコ Omnis用)	【アジレント】 30分	アジレント	希釈済み (そのまま使用)	【アジレント】 20分			

CD3 染色についてのアンケート結果（総数 40）

1. 固定液

固定液の種類	施設数
10% 中性緩衝ホルマリン	39
20% ホルマリン	1

2. 採取から固定までの時間

（生検材料）

時間	施設数
直ちに	33
10 分以内	2
30 分以内	1
1 時間以内	1
不明	3

（手術材料）

時間	施設数
直ちに	9
10 分以内	10
30 分以内	8
1 時間以内	1
2 時間以内	1
症例により異なる（管理はしている）	4
不明（管理はしていない）	3

3. 固定時間

（生検材料）

固定時間	施設数
6 時間以内	1
12 時間以内	4
24 時間以内	24
48 時間以内	8
72 時間以内	3

（手術材料）

固定時間	施設数
24 時間以内	13
48 時間以内	19
72 時間以内	8

4. コントロールの有無

	施設数	自動染色	用手法
あり	31	29	2
なし	9	7	2

コントロールに使用している組織

組織	施設数
リンパ節	7
扁桃	14
虫垂	10

5. 染色のコツがあれば記入してください。

- ・用手法で頑張っています。
- ・乾燥は高温長時間を避ける(60℃30分)。

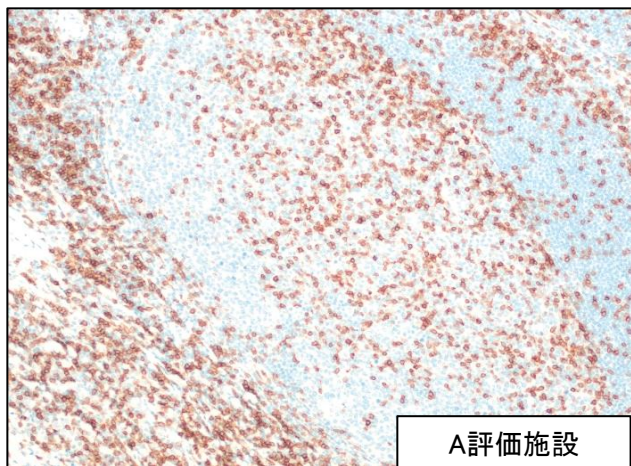
6. 日常業務の免疫染色での悩みなどあればご記入してください。

- ・一次抗体試薬はメーカーの使用期限が切れても使用しているが、コントロールのないものはどれくらい使用してよいのか気になっています。
- ・顎骨などコートガラスを使用してもはがれてしまう場合の対処法は何かありますか。
- ・BAP1の染色性が悪いです。兵庫臨床検査研究所にアドバイスをもらいましたが、染色性をあげるには、optiview を用いたほうが良いとのことでした。当施設は ultraview しか用いていないので困っています。免疫染色で困ったときの相談場所がHPか何かであれば助かるなと思いました。
- ・成書等で脱灰により抗原性が失活する抗体が多数あるとの記載があるが、実際のところ、どの程度で変化が見られるか知りたい。
- ・コントロール切片の無い抗体がある。
- ・コントロールを確保するのに困難な項目が存在する。
- ・Synaptophysin、Claudin4の染色性が低下する。
- ・コントロール標本の収集および作製
- ・不安定な抗体がある。
- ・一次抗体の期限が切れてしまうことが多い。

7. 今後、免疫染色サーベイを行ってほしい項目があれば記入してください。

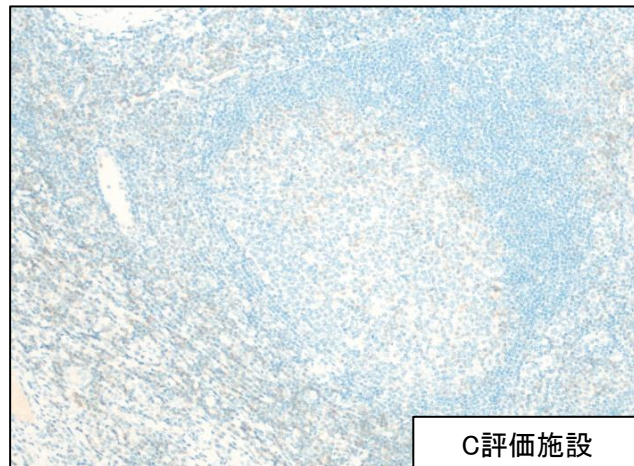
- ・CD10
- ・p53
- ・CD5
- ・CD20
- ・CD45
- ・CD79a
- ・p16

免疫染色サーベイ:CD3



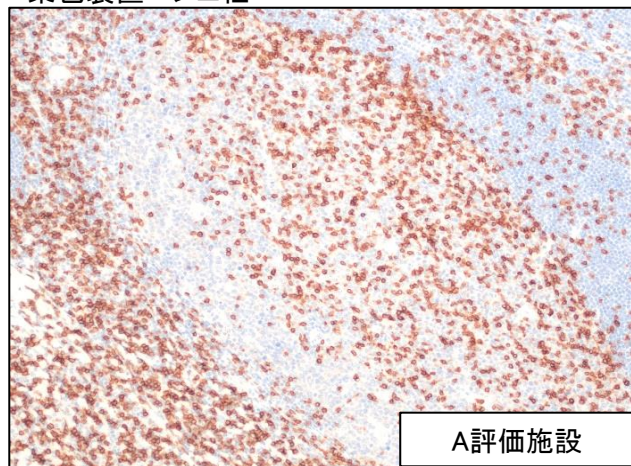
A評価施設

染色装置ロシュ社



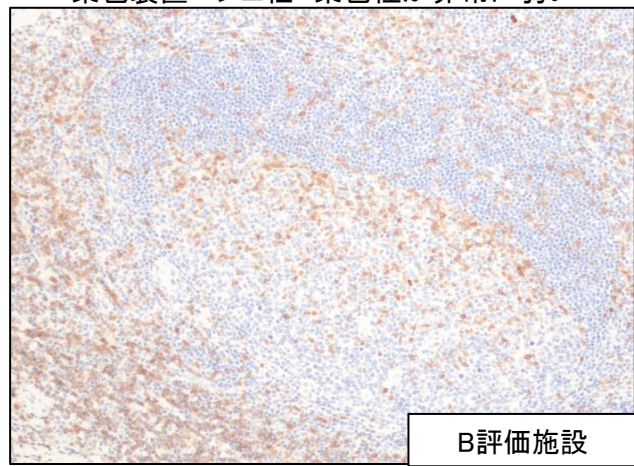
C評価施設

染色装置ロシュ社 染色性が非常に弱い



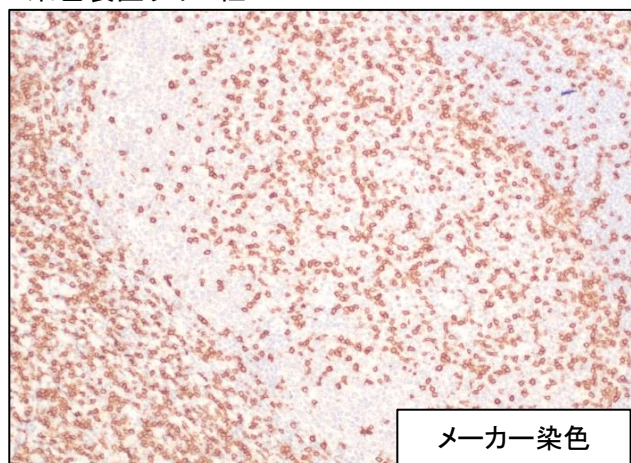
A評価施設

染色装置ライカ社



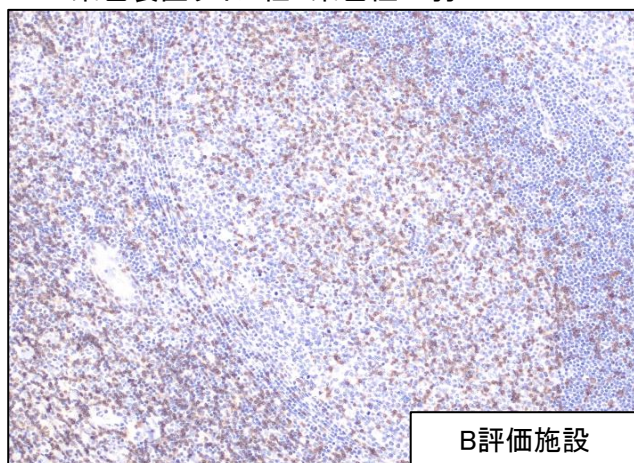
B評価施設

染色装置ライカ社 染色性が弱い



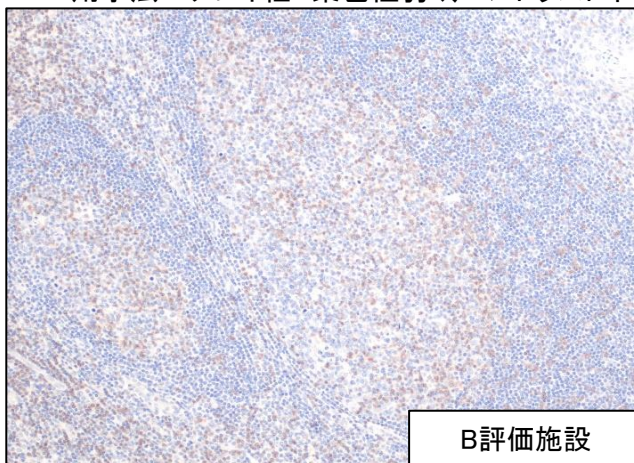
メーカー染色

用手法ニチレイ社



B評価施設

用手法ニチレイ社 染色性弱く、コントラスト不良



B評価施設

用手法ニチレイ社 染色性が弱い

⑮ 細胞診

【はじめに】

今回の細胞診は例年どおりフォトサーベイを行った。昨年度同様、各設問につき**判定区分**と**推定病変**を設け、解答していただくようにした。また解答状況をよりよく把握するために、分からない理由や細胞所見などを記述する欄を設けた。

【参加施設数】

申し込み 51 施設に対し解答総数 51 施設(100%)であった。

【設問・解析方法について】

今回のフォトサーベイはパパニコロウ染色、ギムザ染色、グロコット染色を用い、設問にある材料、年齢、性別、および臨床所見を参照して解答していただいた。解答は**判定区分**と**推定病変**に分け、**判定区分**では良性、悪性の 2 つから 1 つを選択し、子宮頸部においてはベセスダシステムの判定基準を採用した。

推定病変では写真の細胞に最も適当と思われる疾患、あるいは細胞を記述していただくことにした。さらに、分からないとした理由や細胞所見なども記述していただけるようにした。

また、配点は、各設問において**判定区分** 7 点、**推定病変** 3 点の合計 10 点として、最終的に分かり易いように全問正答を 100 点として換算しなおした。

【評価基準および成績の概要】

解答総数 51 施設における正答率は判定区分では 100%、推定病変では A 判定(3 点)99.0%、B 判定(2-1 点)0% 計 99.0%、総合判定では 96.9%であった。

今回、日臨技フォトサーベイに準ずる許容正答(正しい思考過程に基づき鑑別すべき病変まで考えが及んでいる解答)を設けた。表 1 に設問別正答数および正答率を示した。

判定区分では、全問 100%と高い正答率を示し、不正解は無かった。

推定病変では、8 問全てにおいて A 判定と B 判定の合計が 90%以上と高い正答率を示した。正答率が低かったのは設問 6 で A 判定(3 点)は 96.1%で C 判定(0 点)は 3.9%であった。

設問 1 では、高度異形成(severe dysplasia)と上皮内癌(carcinoma in situ)と推定病変の解答が分かれた。フォトサーベイでは限られた写真のみで解答していただくため起こりうる事と考えられるが、両解答とも HSIL の範疇であることから、正答とした。高度異型細胞と解答された施設が 1 施設あったが、ベセスダ分類および子宮頸癌取り扱い規約において確立された分類名あるいは診断名として掲載されておらず、【推定病変あるいは細胞】としては不適切と判断し、不正解とした。設問 4 では LGUC と解答した施設が 1 施設、設問 6 では形質細胞腫、多発性骨髄腫と解答した施設がそれぞれ 1 施設ずつあり、いずれも不正解とした。

今回のフォトサーベイでは推定病変を 2 つ以上記入したもの、誤字・脱字などの記入ミス、などは無かった。

いずれの設問も鑑別については正解と解説を参照していただきたい。今回、全ての設問において正答率が 80%以上となり、問題としては適正と判断した。表 2 に設問別解答数を、表 3 に施設別正答率を示したので参考

としていただきたい。

最終的に、判定区分を 7 点、推定病変を 3 点とし、総合評価として 10 点を A 評価、7 から 9 点を B 評価 6 点以下を C 評価とした。

【設問の正解と解説】

設問1 正解：〔判定区分〕 HSIL

〔推定病変あるいは細胞〕 高度異形成

【解説】

敷石状の配列で、核が腫大し、クロマチンが顆粒状に増量した異型細胞を認める。細胞の大きさからは傍基底型細胞と判断でき、N/C 比は 60～80 % 程度で、核縁は不整でしわや切れ込みなどの核形不整を認める。以上より、高度異形成と推定できる。

しかしながら、上皮内癌あるいは CIN 3 と回答した施設が約 40 % と多かった。一部に N/C 比がかなり高く見え、核形不整が明らかではない細胞を認める事から、上皮内癌とすべき、あるいは高度異形成と上皮内癌の鑑別が困難である、と判断されたと考える。写真内の異型細胞は、全体的には核の緊満感が乏しく核形不整が目立つことから、上皮内癌と鑑別可能であると考えるが、限られた視野での判定は難しく感じられたと推察する。ベセスダ分類では、中等度異形成～上皮内癌を HSIL としていること、また、子宮頸癌取り扱い規約でも高度異形成および上皮内癌を CIN 3 と包括していることから、上皮内癌も許容の範疇であると判断し、正答とした。

なお、「高度異型細胞」との回答については、ベセスダ分類および子宮頸癌取り扱い規約において確立された分類名あるいは診断名として掲載されておらず、【推定病変あるいは細胞】としては不適切と判断し、不正解とした。

設問2 正解：〔判定区分〕 良性

〔推定病変あるいは細胞〕 *Pneumocystis jirovecii*

【解説】

組織球を背景に泡沫状物質が出現している。その中に、小型の核様構造を有する淡明円形構造物が認められる。パパニコロウ染色では溶血赤血球様で染色されていないが、グロコット染色では囊胞壁と囊胞内のヘソ状構造物に黒色の染色性が得られた。*Pneumocystis jirovecii*（ニューモシスチス・イロヴェチー）の細胞像と推定できる。

クリプトコッカスが鑑別疾患に挙がるが、二重構造を有する英膜が円形無構造物質に見られる点で鑑別可能である。旧分類名 *Pneumocystis carinii*（ニューモシスチス・カリニ）と解答した施設は無かった。

設問3 正解：〔判定区分〕 悪性

〔推定病変あるいは細胞〕 小細胞癌

【解説】

クロマチンの微細な増加を伴った類円形小型裸核状の腫瘍細胞が散在性に多数出現している。細胞質は狭

小であり、一部に核と核が圧排性の結合（木目込み細工様配列）を呈する像を認める。小細胞癌の細胞像である。

小細胞癌では細胞が壊れやすく、生検検体と同様に、標本作製時に核線になり易い。細胞診と組織診の結果は良く一致する。本症例では ProGRP が異常高値であったため診断の一助にもなった。悪性リンパ腫との鑑別が困難な場合もあるが、上皮性結合の有無が鑑別点となる。

設問4 正解：〔判定区分〕 悪性

〔推定病変あるいは細胞〕 尿路上皮癌（高異型度尿路上皮癌）

【解説】

好中球を背景に大型で異型の強い細胞が集塊や孤立散在性に出現している。異型細胞には、核形不整、クロマチンの増量、目立つ大型核小体を1個～数個認め、核には偏在性がみられる。また、少数ではあるが、pair cell 様の所見も認める。低異型度尿路上皮癌は細い乳頭状構造を示し、構造異型は軽度で個々の細胞異型も軽度である。以上から尿路上皮癌（高異型度尿路上皮癌）と推定可能と考える。

泌尿器細胞診の報告様式はパリシステムと泌尿器細胞診報告様式 2015 とがある。パリシステムでは高異型度尿路上皮癌を検出することを目的としており、高異型度尿路上皮癌は「HGUC（High grade urothelial carcinoma）」、低異型度尿路上皮癌は「高異型度尿路上皮癌陰性（NHGUC：negative for high-grade urothelial carcinoma）」の異なるカテゴリーに分類されている。また、泌尿器細胞診報告様式 2015 では、高異型度尿路上皮癌は「悪性（Malignancy）」、低異型度尿路上皮癌は「悪性の疑い（Suspicious for malignancy）」のカテゴリーに分類されている。いずれの報告様式においても高異型度尿路上皮癌と低異型度尿路上皮癌は別のカテゴリーに分類されている点から、低異型度尿路上皮癌の回答は不正解とした。

設問5 正解：〔判定区分〕 悪性

〔推定病変あるいは細胞〕 乳頭癌

【解説】

腫瘍細胞をシート状集塊で認める。細胞質はライトグリーン好性で細胞境界は明瞭である。核は腫大し、核形不整、核内細胞質封入体が見られ、核クロマチンは微細顆粒状（すりガラス状）である。また、分葉状の核、核の大小不同を認める。本症例では核溝や重畳は目立たないが、乳頭癌に特徴的な核所見（核内細胞質封入体、すりガラス状クロマチン、分葉核）を認め、乳頭癌と推定できる。

核内細胞質封入体は細胞質が陥入したものであるため、色調は細胞質と同一である。

甲状腺腫瘍組織分類は形態学的に定義されるが、各腫瘍のドライバー遺伝子の異常が考慮されている。甲状腺腫瘍の病理診断のみならず、治療法の選択や、分子標的薬の適応においても遺伝子異常の知識が重要となっている。甲状腺濾胞細胞由来の高分化癌の大部分は、ドライバー遺伝子によりRAS系腫瘍とBRAF系腫瘍の2つに大別される。乳頭癌ではBRAF遺伝子点突然変異（BRAF p.V600E）が高率にみられ、次にRET遺伝子の再構成がみられる。RAS遺伝子の点突然変異は稀である。これらの遺伝子異常は相互排他的である。（参考：甲状腺癌取扱い規約第9版）

設問6 正解：〔判定区分〕 悪性

〔推定病変あるいは細胞〕 悪性リンパ腫（リンパ腫）

【解説】

パパニコロウ染色、ギムザ染色ともに結合性の乏しい異型細胞の単調な細胞像である。個々の細胞は大型で、核形不整な細胞も目立つ。ギムザ染色では弱い塩基性の細胞質で打ち抜き空胞を有する細胞も散見される。悪性リンパ腫の細胞像である。

本症例は HENCEL (HHV8-negative common effusion lymphoma) が疑われた症例である。

本疾患は体腔液に原発する大型 B 細胞性リンパ腫であり、定義上は HHV8 (ヒトヘルペスウイルス 8 型) は陰性であり、PEL (Primary effusion lymphoma) とは別の疾患である。

我が国で体腔液に原発するリンパ腫は HENCEL の方が PEL よりも多いとされている。予後が良いものが含まれ、体腔液ドレナージのみで消失する例や、自然消退する例も報告されている。高齢者に多く、男性に多いとされている。病理学的特徴としては、HHV8 (-)、CD20 (+)、細胞形態は様々であるが、大型で淡明～弱い塩基性を示す細胞質を有することが多いとされている。時に細胞質内空胞も認められる。悪性リンパ腫は様々な臓器に発生する疾患であるが、本疾患では体腔液検体を用いた検査が診断の決め手となることも多い。セルブロック作製やフローサイトメトリー検査を検討することも重要であり、早急かつ正確な細胞診断が重要であると考えらる。

形質細胞腫、多発性骨髄腫と回答された施設があった。形質細胞と判定するには、核偏在傾向を示す細胞の単調な細胞所見は見られず、個々の細胞の細胞質は狭く、N/C 比も高いと考える。悪性リンパ腫と判定可能と考え、不正解とした。

設問7 正解：〔判定区分〕 悪性

〔推定病変あるいは細胞〕 腺癌（印環細胞癌）

【解説】

今回提示した症例では、きれいな背景に孤在性から集塊として出現している異型細胞を認める。細胞質には粘液を有しており、そのために圧排された核が偏在傾向を示している。異型細胞個々の結合性は比較的緩く、クロマチンの増量および不均等な分布、核縁の肥厚などがみられる。以上から腺癌（印環細胞癌）と推定可能である。

胃の悪性腫瘍の 90%～95%は上皮系悪性腫瘍で、そのほとんどが腺癌である。50～60 歳代に好発し、その組織型は分化型と未分化型若しくは一般型と特殊型に大別される。今回提示した印環細胞癌は未分化型/一般型に分類され、病理組織学的に「癌細胞内に粘液を種々の程度貯留する印環型の細胞からなる腺癌」と定義されている。

核異型に乏しい印環細胞癌では、時に組織球との鑑別が重要になる。組織球は細胞間の結合性がなく、クロマチンの増量や大型核小体は認めない。また、腺癌（印環細胞癌）では細胞質に粘液を有し、淡いピンク色や泡沫状を呈すが、組織球では無構造な変性空胞として観察される点が鑑別のポイントとなる。

設問8 正解：〔判定区分〕 悪性

〔推定病変あるいは細胞〕 扁平上皮癌

【解説】

表層から深層型の扁平上皮細胞を認める。オレンジ G 好性で高輝度な 2～複数核を有する異型細胞や有尾状の細胞質を有する異型細胞がみられる。核の腫大、核小体明瞭、クロマチン増量を伴うライトグリーン好性の深層型扁平上皮異型細胞も確認できる。異型細胞は多彩であり、以上の所見より扁平上皮癌を考えることができる。

口腔細胞診は、口腔領域の扁平上皮癌およびその前癌状態を早期発見するのに必要な検査方法として、現在普及が進んでいる。口腔細胞診とその結果報告のための記述式新報告様式は、日本では、NILM、OLSIL、OHSIL、SCC といった記述分類カテゴリーが標準報告様式として普及している。

新報告様式には、判定区分と臨床での対応が明確に記されている。NILM：一般歯科での短い間隔での注意深い観察が望まれる。OLSIL：腫瘍性変化を考えているので、口腔外科医のいる高次医療機関にて生検を含めた処置が必要。OHSIL：悪性の可能性が高いので、速やかな高次医療機関での処置が必要。SCC：直ちに高次医療機関での対応が必須である。

分類名は子宮頸部のベセスダシステムに非常に近いが、口腔癌では、子宮頸癌で一般的な全層置換型は稀で、多くは表層分化型がほとんどであり、発育過程が異なるため注意が必要である。

口腔細胞診のガイドラインより深層型扁平上皮異型細胞の出現は、OHSIL や SCC となるため非常に重要であるが、ライトグリーン好性の修復細胞や反応性変性細胞との鑑別が最も難しい。

また、口腔細胞診では採取部位の状態も非常に重要であるため、所見には患部写真またはシェーマが必要である。外向型病変の場合、表層の角化扁平上皮細胞層しか擦過することが出来ず、異型のない細胞のみがみられることがある。この場合、細胞診のみでの判定は困難であり、臨床医とのディスカッションが非常に重要となる。普及が進んでいるとはいえ、まだまだ検体数の少ない領域である。

しかしながら、患者の QOL を著しく低下させる口腔癌の早期発見の為、今後もサーベイで定期的に扱っていきたいと考える。

【症例提供者】

今川 奈央子	・神戸大学医学部附属病院
太田 寛子	・宝塚市立病院
尾松 雅仁	・神戸市立医療センター中央市民病院
片山 裕司	・JCHO 神戸中央病院
佐藤 元	・兵庫医科大学病院
廣尾 嘉樹	・姫路赤十字病院
掘井 吉人	・西脇市立西脇病院
松木 慎一郎	・兵庫県立西宮病院

【講評】

今年度のサーベイも昨年度同様、各設問につき**判定区分**と**推定病変**を設け、**判定区分**では良性・悪性の2つから1つを選択、また子宮頸部はベセスダ分類に準じた判定とした。**推定病変**では症例に最も適当と思われる病変あるいは細胞を記述していただくようにした。これにより、選択の幅が広がり解答が絞り難くなるものの、消去法による安易な選択解答は回避できる。また、選択式をとる事で、記載された解答項目に当てはまらない等の混乱を防ぎ、臨床所見を加味しながら細胞をじっくり観察し、細胞を読むという細胞診の基本概念に立ち戻れると思われた。

今回の設問における判定区分の正答率は100%と高かった。前回と同様に選択肢を2択にしたのもその一因と思われる。

推定病変に関してもA判定(3点)99.0%、B判定(2-1点)0% 計99.0%と高い正答率であった。選択式ではなく記述式のため同じ解答でも若干の文言の違いが見られたが、多くは正解の範囲内であった。誤字は無かった。設問1では1施設、設問4では1施設、設問6では2施設、推定病変の間違いがあった。施設により症例に偏りがあると思われるが一般病院などで日常遭遇すると思われる症例を提示した。

【設問の正解と解説】を参考に、細胞所見を詳細に観察し、**推定病変**まで解答していただきたいと考える。来年度以降も**判定区分**は選択式とし、**推定病変**に関しても記述式から選択式への移行を例年考慮しているが、双方一長一短がありその判断は難しい。また、各学会が発行している取扱い規約の改定に伴って組織分類や名称が変更するため、最新の規約に対応できているかを判断する良い機会であるとも考えており、この点を重視すると記述式を採用する利点は大いにあると考える。

今回の設問では、子宮頸部1例、呼吸器2例、泌尿器1例、体腔液2例、甲状腺1例、口腔1例、から出題した。今後も幅広く出題し、多くの症例を提示できればと考える。

【まとめ】

今回、正答率がすべての問題で80%以上であった。また、判定区分の間違いがなかったことから、是正対象施設も無かった。大変満足できる内容であった。

最後に、ご多忙中にもかかわらず、精度管理にご参加いただいた各施設の技師の皆様に御礼申し上げます。

(文責:病理・細胞検査研究班)

表 1

回答 51 施設

設問	判定区分		推定病変		
	正答数	正答率 (%)	正答数	正答数 (減点あり)	正答率 (%)
1	51	100	50	－	98.0
2	51	100	51	－	100
3	51	100	51	－	100
4	51	100	50	－	98.0
5	51	100	51	－	100
6	51	100	49	－	96.1
7	51	100	51	－	100
8	51	100	51	－	100
平均	51	100	99.1		99.0

表 2

回答 51 施設

設問		判定区分		推定病変		
		NILM	HSIL 等	1 位	2 位	3 位
		良性	悪性			
1	解答名			高度異形成	上皮内癌	CIS
	解答数	0	51	21	11	6
	(解答率)	(0%)	(100%)	(41.2%)	(21.6%)	(11.8%)
2	解答名			Pneumocystis jirovecii	ニューモシスチス イロベチー	ニューモシスチス イロベチィ
	解答数	51	0	11	11	9
	(解答率)	(100%)	(0%)	(21.6%)	(21.6%)	(17.6%)
3	解答名			小細胞癌	small cell carcinoma	－
	解答数	0	51	49	2	
	(解答率)	(0%)	(100%)	(96.0%)	(4.0%)	
4	解答名			尿路上皮癌	高異型度 尿路上皮癌	Urothelial carcinoma
	解答数	0	51	39	1	1
	(解答率)	(0%)	(100%)	(76.5%)	(2.0%)	(2.0%)
5	解答名			乳頭癌	甲状腺乳頭癌	Papillary thyroid carcinoma
	解答数	0	51	49	1	1
	(解答率)	(0%)	(100%)	(96.0%)	(2.0%)	(2.0%)
6	解答名			悪性リンパ腫	リンパ腫	Malignant lymphoma
	解答数	0	51	37	11	1
	(解答率)	(0%)	(100%)	(72.5%)	(21.6%)	(2.0%)
7	解答名			印環細胞癌	腺癌	腺癌(印環細胞癌)
	解答数	0	51	22	17	6
	(解答率)	(0%)	(100%)	(43.1%)	(33.3%)	(11.8%)

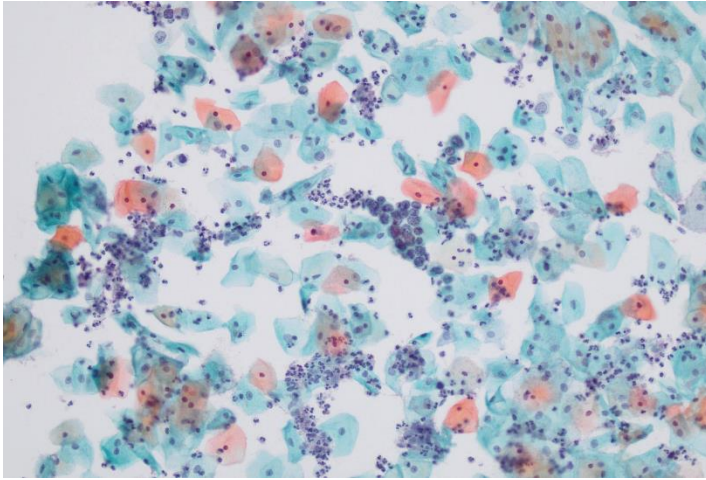
8	解答名			扁平上皮癌	SCC	Squamous cell carcinoma
	解答数	0	51	49	1	1
	(解答率)	(0%)	(100%)	(96.0%)	(2.0%)	(2.0%)

表 3

施設番号	正解率	施設番号	正解率
9280095	100%	9280155	100%
9280146	100%	9280092	100%
9280059	100%	9280020	92.5%
9280125	100%	9280164	100%
9280083	100%	9280038	100%
9280115	100%	9280280	100%
9280209	100%	9280237	100%
9780066	100%	9280012	100%
9280100	100%	9280390	100%
9280153	100%	9280003	100%
9280117	100%	9780060	100%
9280051	100%	9280130	100%
9280148	100%	9280143	100%
9280010	100%	9280002	100%
9280187	100%	9280099	100%
9280114	96.3%	9280140	100%
9280091	100%	9280417	100%
9280060	100%	9280033	100%
9280322	100%	9280047	100%
9280169	100%	9280191	100%
9270069	100%	9280042	100%
9280149	100%	9280001	100%
9280035	100%	9780014	100%
9280160	100%	9280135	96.3%
9280124	100%	9780032	100%
9280206	100%		

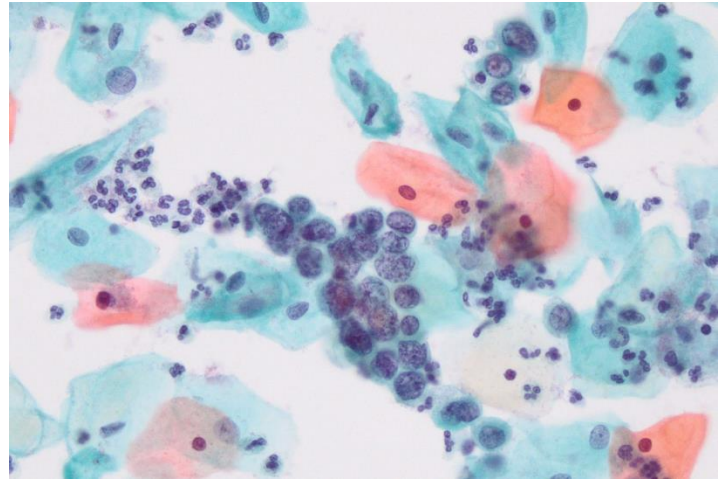
細胞診【 P1 】 フォトサーベイ ①

【設問 1】



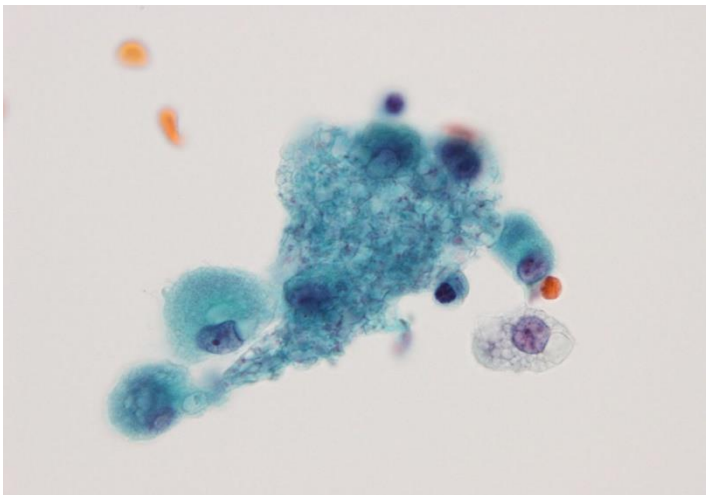
(フォト 1-A Pap.染色 弱拡大)

【設問 1】



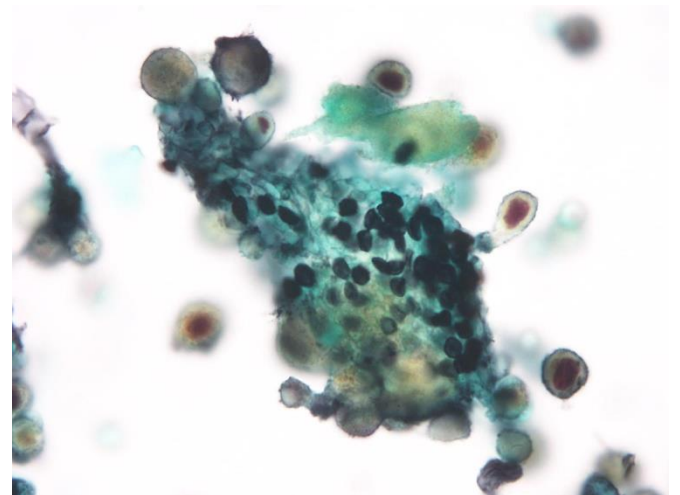
(フォト 1-B Pap.染色 強拡大)

【設問 2】



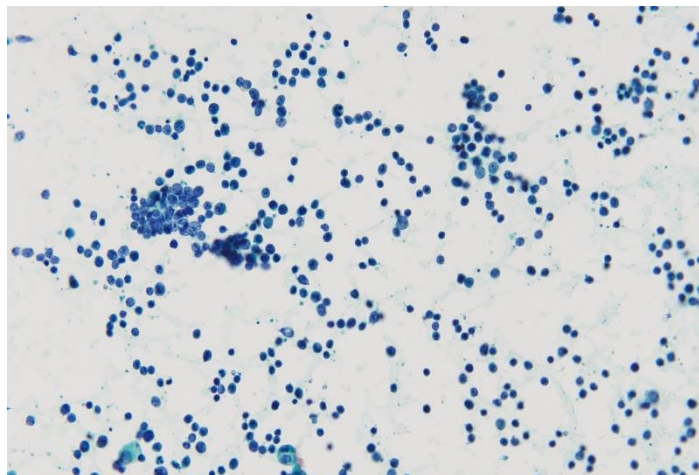
(フォト 2-A Pap.染色 強拡大)

【設問 2】



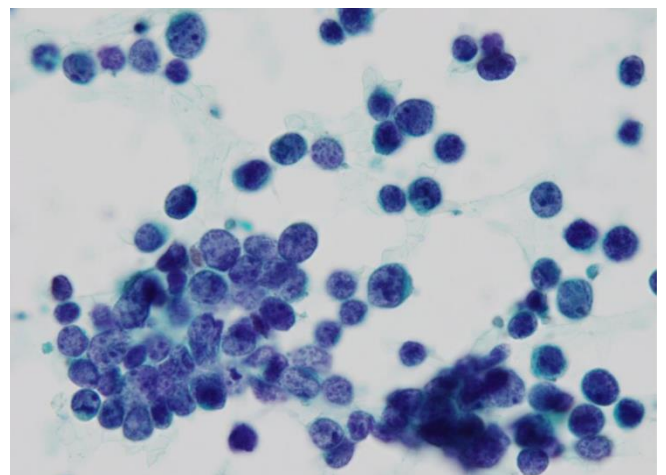
(フォト 2-B Grocott.染色 強拡大)

【設問 3】



(フォト 3-A Pap.染色 弱拡大)

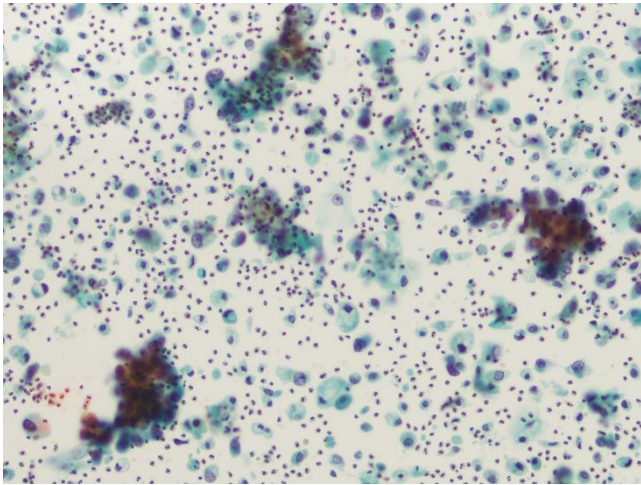
【設問 3】



(フォト 3-B Pap.染色 強拡大)

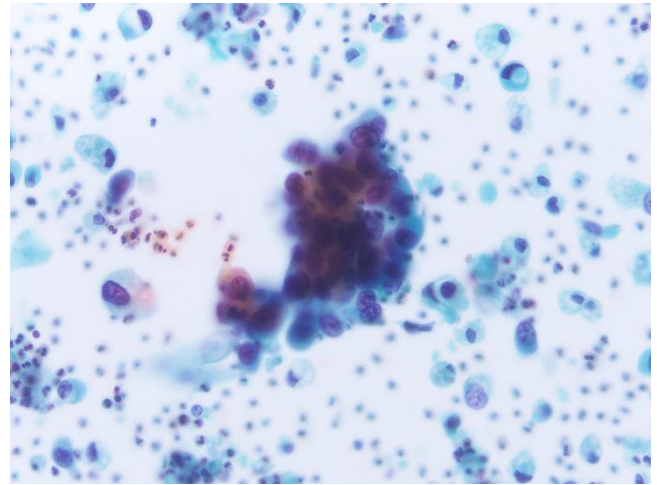
細胞診【 P1 】 フォトサーベイ ②

【設問 4】



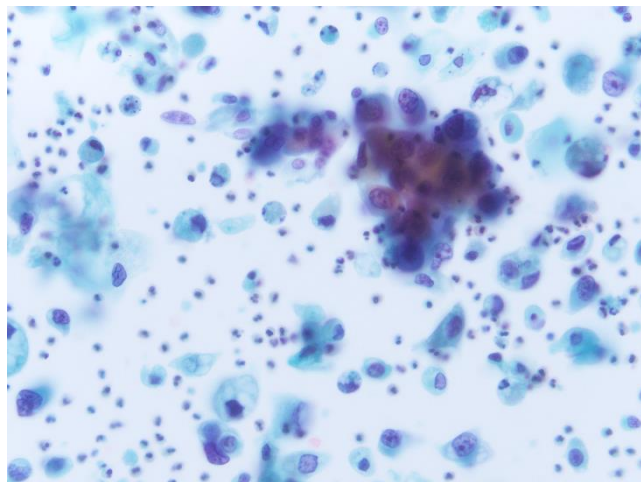
(フォト 4-A Pap.染色 弱拡大)

【設問 4】



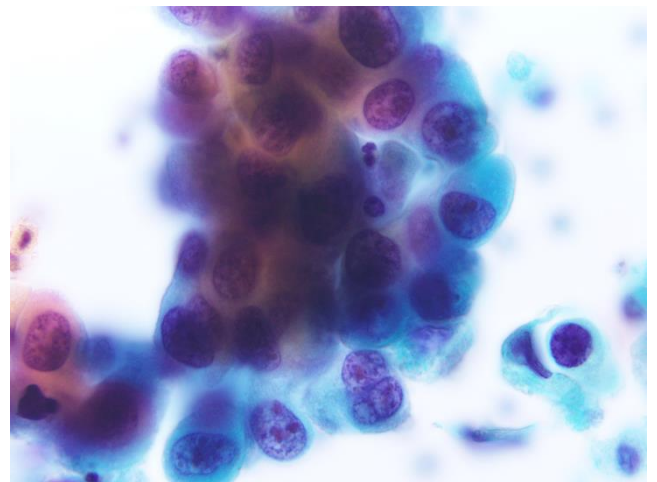
(フォト 4-B Pap.染色 強拡大)

【設問 4】



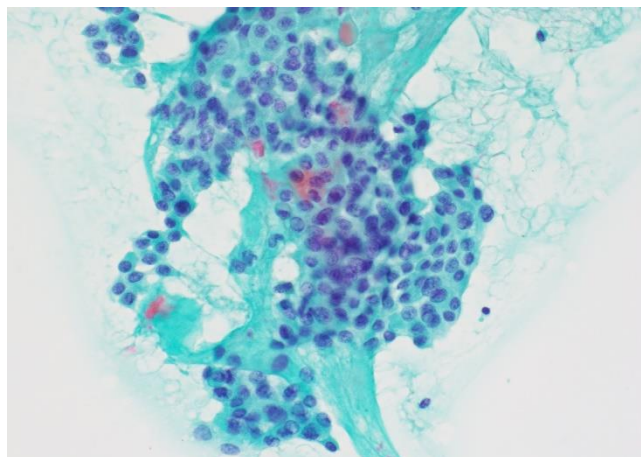
(フォト 4-C Pap.染色 強拡大)

【設問 4】



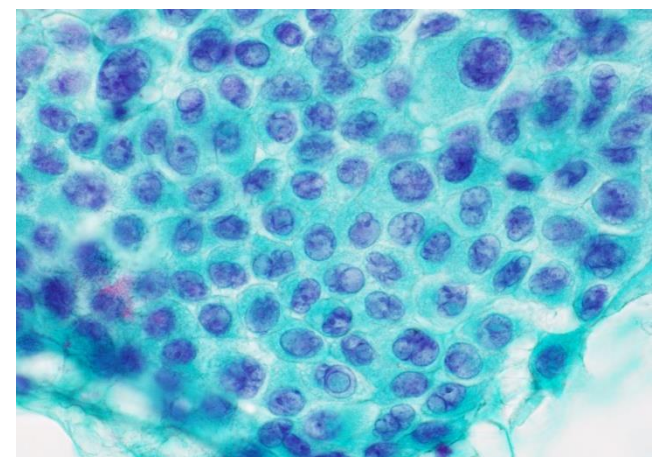
(フォト 4-D Pap.染色 強拡大)

【設問 5】



(フォト 5-A Pap.染色 弱拡大)

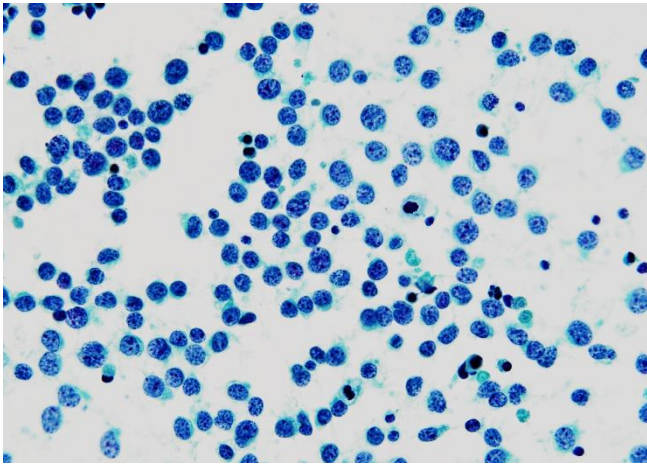
【設問 5】



(フォト 5-B Pap.染色 強拡大)

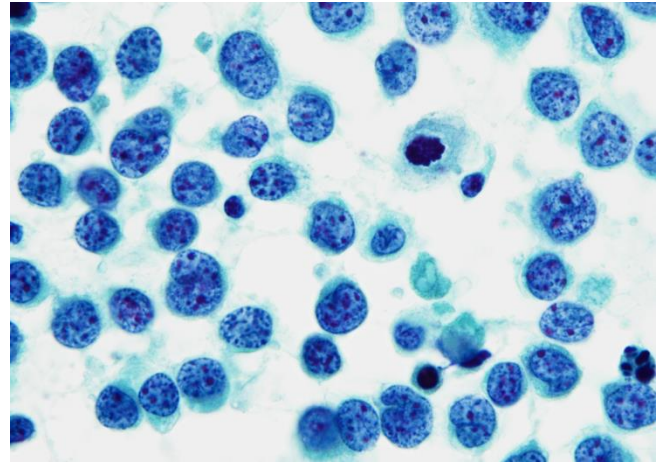
細胞診【 P1 】 フォトサーベイ ③

【設問 6】



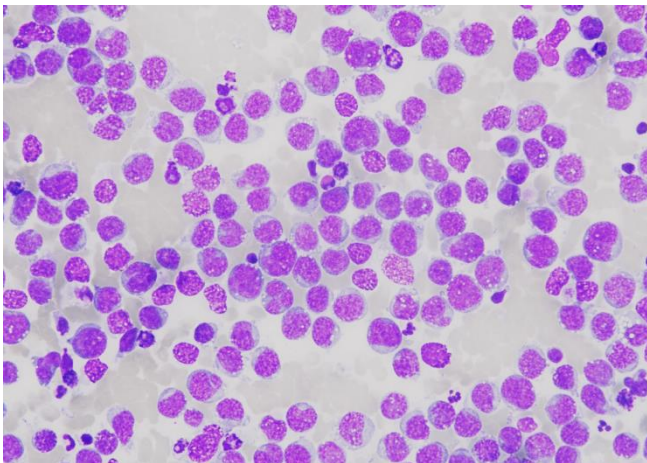
(フォト 6-A Pap.染色 弱拡大)

【設問 6】



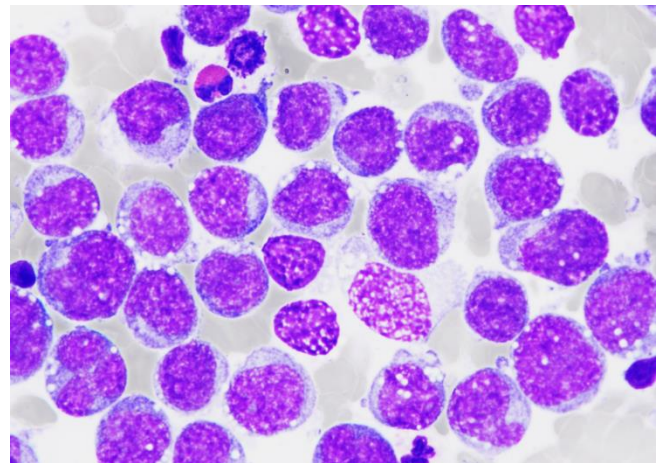
(フォト 6-B Pap.染色 強拡大)

【設問 6】



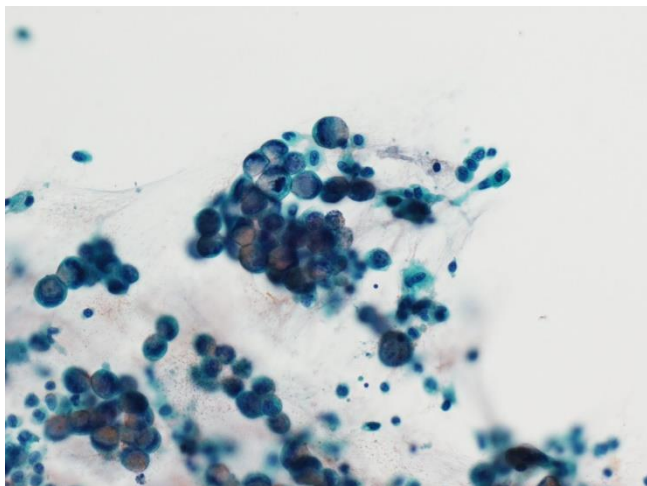
(フォト 6-C Giemsa 染色 弱拡大)

【設問 6】



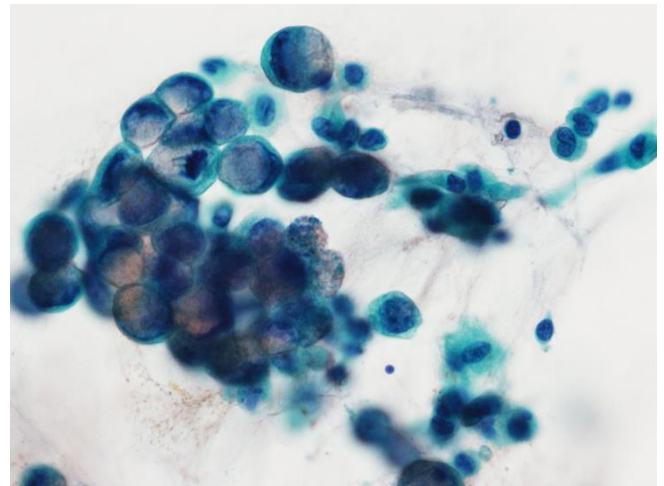
(フォト 6-D Giemsa 染色 強拡大)

【設問 7】



(フォト 7-A Pap.染色 弱拡大)

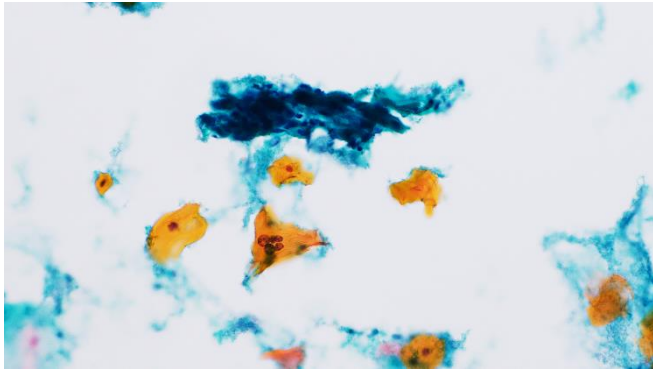
【設問 7】



(フォト 7-B Pap.染色 強拡大)

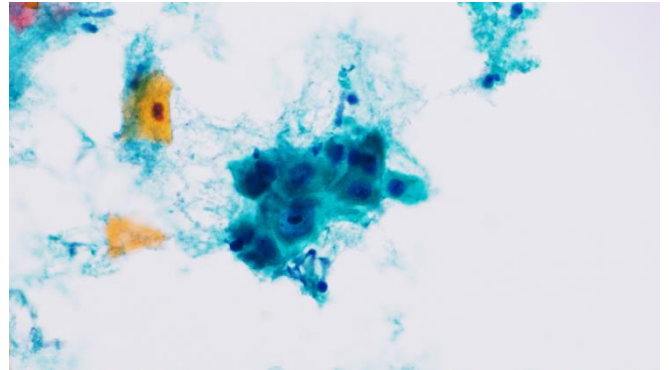
細胞診【 P1 】 フォトサーベイ ④

【設問 8】



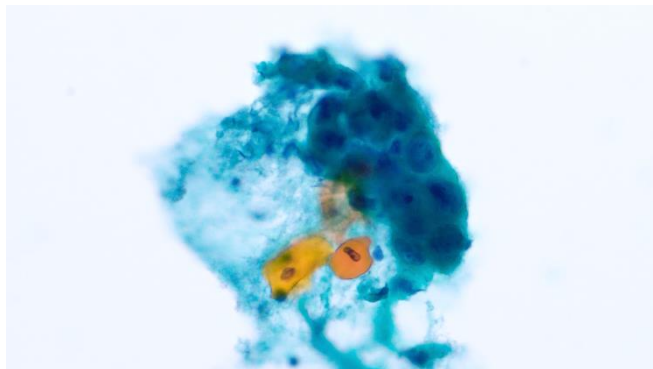
(フォト 8-A Pap.染色 弱拡大)

【設問 8】



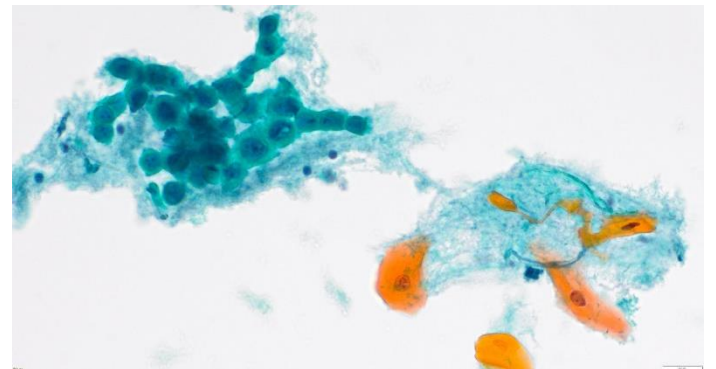
(フォト 8-B Pap.染色 強拡大)

【設問 8】



(フォト 8-C Pap.染色 強拡大)

【設問 8】



(フォト 8-D Pap.染色 強拡大)