

回のシステムを利用する以前は、VSデータと閲覧ソフトの用意を行っていたが、WebScopeであれば依頼先のPC環境を選ばず、また設定準備の必要がないため、この方法を採用した。

#### 4. コンサルテーションシステムの流れ

依頼者は、組織標本をスキャンしてサーバへ保存し、コンサルテーションシステムの画面上で患者情報を入力し、該当するVSを指定する。必要に応じてVSは5枚、静止画像は3枚まで提示できるので、皮膚や腫瘍などのマクロ像や手術所見などを判断材料として利用することが可能である。また、登録してある病理医のなかから一度に最大10名の病理医へ依頼送信が可能である。

診断依頼のメールを受信した病理医は、ID・パスワードでシステムへアクセスする。患者情報を確認し、VSを観察して診断結果や根拠など必要なデータを入力し、送信する(図4~6)。

依頼者はメールで診断結果を受信し、システムの管理画面より回答を確認する。複数の病理医へ依頼を行い、回答が自分の考えと異なる場合であっても、最終的に自分の責任で診断を下す。

## II. 結果

具体的な症例を提示する。1例目は42歳女性の子宮頸部の組織で癌を疑う症例である。一部に高度の異型を認めたため、院内(岩手医大)を含めて北は北海道、南は沖縄までの全国6施設の病理医にコンサルテーションを依頼し

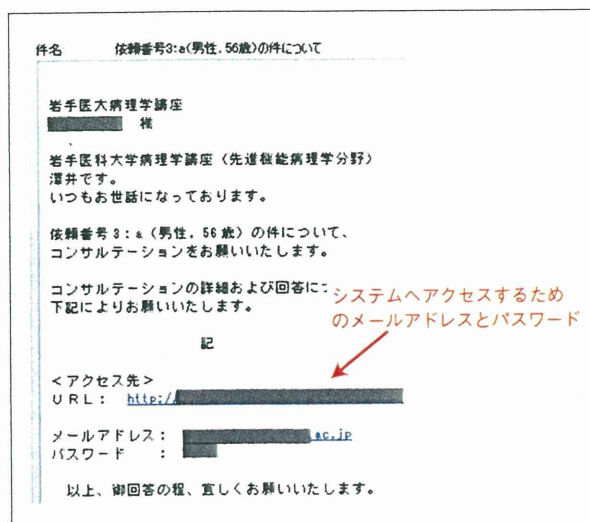
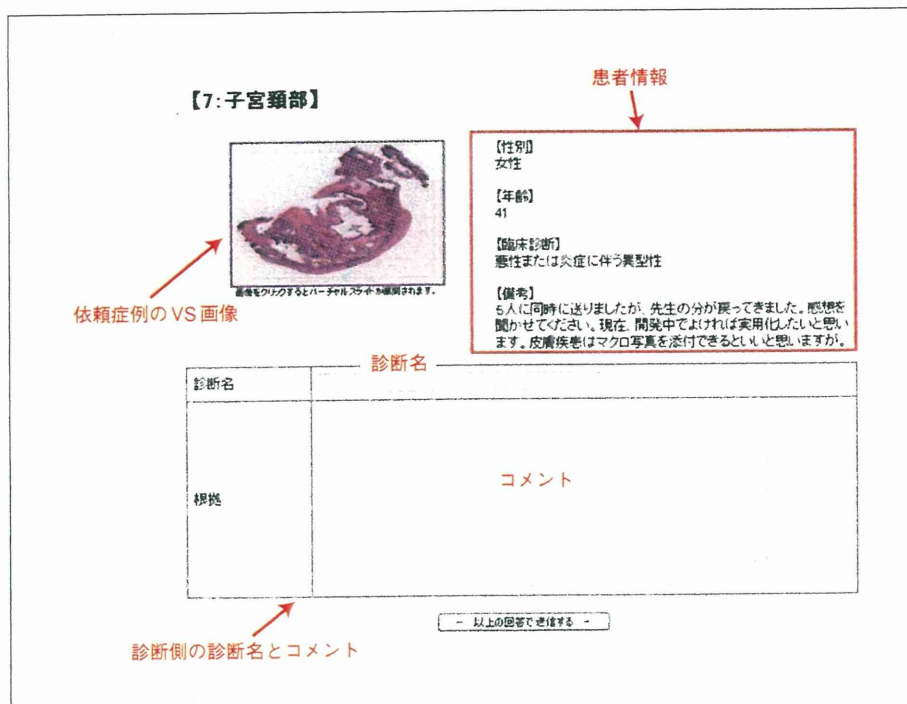


図4 診断依頼メール システムから診断メールを受信する。

た。早い例では10分、遅い例でも10時間、平均6時間で回答があり、“CIN2”と診断したのは2名、あとの4名の診断は“CIN1”であった。最終的な責任は依頼側にあるため検討した結果、“CIN2”にして“十分な追跡が必要である”と診断し、臨床側に回答した。もちろん、初めに6人の病理医に対しては、複数の病理医にコンサルテーションを行うことを付け添えている。

図5 依頼内容画面 システムへアクセスすると、患者情報が提示される。



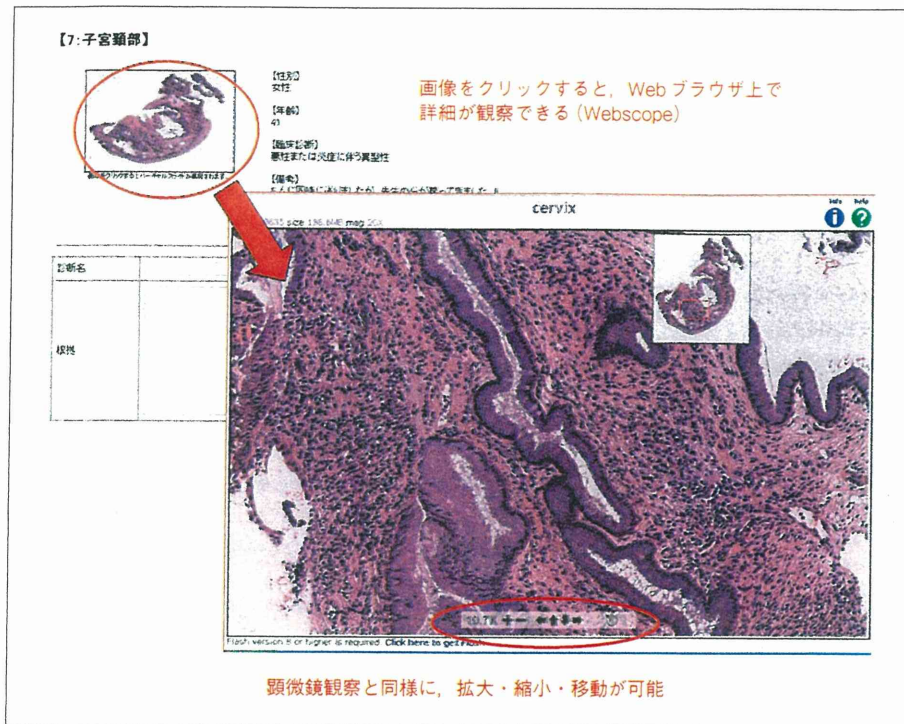


図6 VS画面 画面(サムネイル画像)をクリックすると、Webブラウザ上でVSが開く。

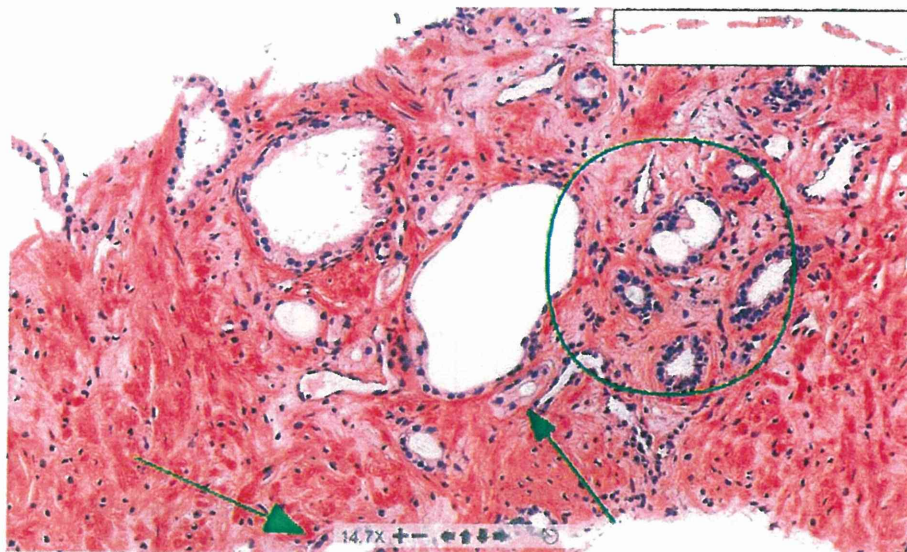


図7 アノテーションを提示 丸, あるいは矢印で表示が可能.

2例目は前立腺組織の症例である。細胞および核に異型は認めなかったが、小型腺管の上皮に二層構造を欠いていたため、本邦の前立腺の専門病理医へコンサルテーションを依頼した。当初、20倍で取り込んだVSで診断を依頼したが、核の性状が不鮮明であるということで、40倍で取り込んだ画像を再度送信した。その後、問題となる腺管のアノテーションや34βE12の免疫染色を依頼されたので、それに従って画像を取り込み送信した(図7, 8)。その結

果、依頼した専門病理医から“軽度異型の上皮”という診断を受け、我々も自分たちの責任のもとに“異形成”と診断した。この前立腺組織のコンサルテーションにおいては、数回のやり取りの中でも早いものでは15分で回答があり、3日間程で全てが終了した。

このような方法でこれまで子宮頸部、前立腺、肺など良悪性のコンサルテーションを23症例行っている(表1)。



図8 免疫染色を提示 問題の箇所を矢印で表示した。

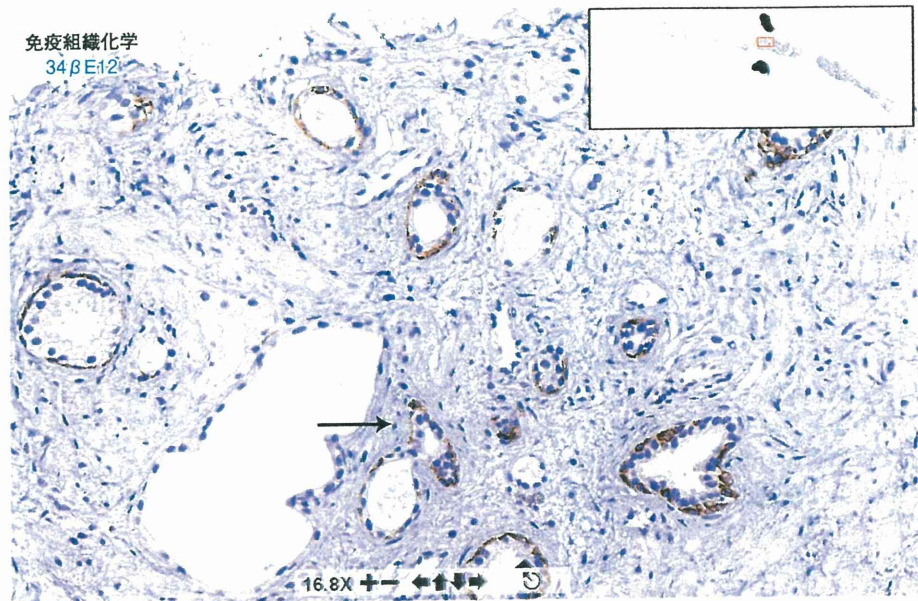
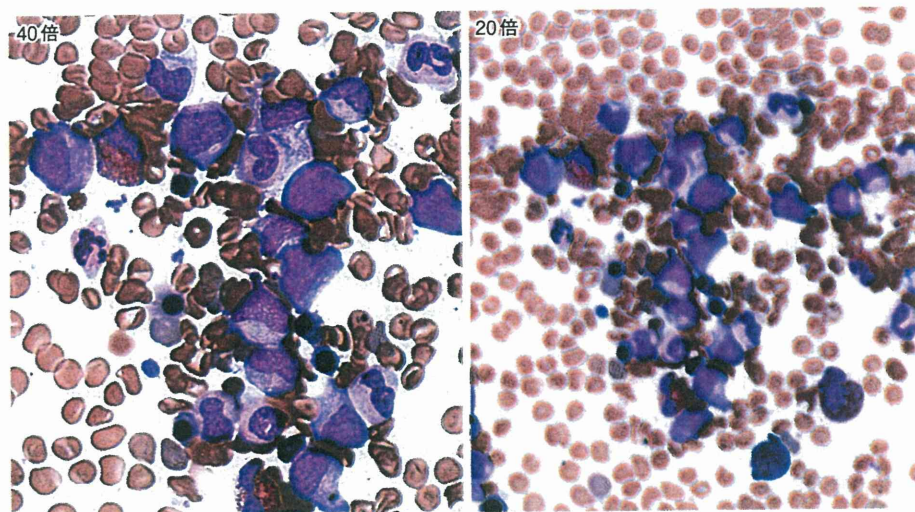


図9 血液像でみる20倍と40倍の比較



### Ⅲ. 考 察

今回のコンサルテーションの特徴は、プレパラートを直接送付する従来の方式を電子化した点にある。これによって、コンサルテーションに要する診断の時間、作業、送付に関する費用を大幅に短縮させただけでなく、一度に多数の病理医に対してコンサルテーションを依頼することが可能となった。また、一度のやり取りだけにとどまらず、数回のやり取りを行った前立腺症例の事例をみても、従来の直接送付と比較して時間的、経済的な効率が非常に高いといえる。

複数にコンサルテーションを行う場合、回答意見の差異が目されるが、今まで行ってきたコンサルテーションの

表1 これまでの実施症例

臓器	症例数	依頼医師数
子宮頸部・体部	6	15
前立腺	3	3
肺	3	7
大腸	2	1
皮膚	2	2
乳腺	1	1
十二指腸	1	2
脊椎	1	2
リンパ節	1	1
胃	1	1
副甲状腺	1	1
肝臓	1	1
合計	23	37

2009年5月～2011年3月までの症例実績。

中で大きな意見の乖離はなかった。しかし、対物レンズ20倍よりも40倍でスキャンを行った方が核の性状が鮮明になるため、確信をもって診断回答される場合が多い。40倍のスキャンに関しては、データの処理時間、サイズともに大きくなるため、コンサルテーションを円滑に行う点を考慮して通常は20倍でスキャンしている。細胞像が問題になる場合であれば、40倍スキャンは詳しい診断回答、根拠を得る有効な手段といえる(図9)。

VSシステム機を導入する場合の初期費用に関して、スキャンのための装置とそれを操作しデータ管理を行うサーバが必要となる。これらは高額機器なため、VSの普及には低価格化が必要不可欠である。2008年、厚労省はがん対策のなかでバーチャルスライドシステムの導入の推進として機器購入の半額を援助する制度を設けており、VSの普及台数は約250台と増え、医科大学の約60%に導入された<sup>9)</sup>。これにより2008年以降VSの普及は拡大したが、コンサルテーションを目的としている機関は少なく、教育、カンファランス、学会発表といった使われ方が主流である<sup>10)</sup>。しかし、標本を複数人で観察できる利点は大きく、教育、研究、臨床の分野で活用できるようになれば、費用対効果がでるものと思われる。また、将来VSによる病理診断が、保険診療として認められれば、使用のニーズが高まり、VSによるコンサルテーションも増えてくるものと思われる。

一般的に、インターネットを利用したコンサルテーションは、静止画像を使用して現在も世界的に行われている<sup>11,12)</sup>。しかし、静止画像と比較して拡大、縮小、画像移動が可能なVSのほうが、標本観察において有用であることはいうまでもない。さらに、このシステムは、稀有、あるいは教育的に貴重な症例を多くの病理医が供覧でき、教育的な面だけでなく診断精度の向上にもつながるといえる。利用が拡大すれば、国際的なデータベースとしての活用も期待できる。

現在、国際的にみても病理医が少ないため<sup>13,14)</sup>、幾つかのコンサルテーションがインターネットを介して行われているが<sup>15)</sup>、今回のシステムでは依頼側にバーチャルスライド機器が必要であるものの、回答側では通常のPCがあれば利用可能である。回線に関しては、光ファイバーでネットワークが接続していれば十分に操作可能であり、通信衛星などが利用できると、全世界的にVS画像を共有したコンサルテーション、カンファランスが可能となる<sup>16)</sup>。

#### IV. 結 論

VSを利用したコンサルテーションシステムは、従来の方式と比較して発送の手間、経費が削減でき、回答時間も短縮できる。光ファイバーを利用したインターネットの環境下では、国内外問わず誰にでも送信・回答が可能であるため、病理医不足の現状を補う有効な手段といえる。この

システムを今後広く活用することで、医療に対して大きく貢献できるものと思われる。

#### 文 献

- 1) 濃沼信夫：病理医をめぐる課題と医療制度改革の展望。病理と臨床 2005, 23 : 1025-1030
- 2) 病理学会報告 (Personal communication)
- 3) 長谷部孝裕 (Personal communication)
- 4) Halliday, B.E., Bhattacharyya, A.K., Graham, A.R. et al. : Diagnostic accuracy of an international static-imaging telepathology consultation service. *Human Pathol* 1997, 28 : 17-21
- 5) 澤井高志：バーチャルスライド特集にあたって。 *Med Technology* 2008, 36 : 792-795
- 6) 鈴木健介, 石澤 伸, 江頭玲子 他：肺の病理診断バーチャルスライドと病理診断臨床・教育・研究への応用。 *日本胸部臨床* 2008, 67 : S214-S221
- 7) Jara-Lazaro, A.R., Thamboo, T.P., Teh, M. et al. : Digital pathology : exploring its applications in diagnostic surgical pathology practice. *Pathology* 2010, 42 : 512-518
- 8) Tsuchihashi, Y., Takamatsu, T., Hashimoto, Y. et al. : Use of virtual slide system for quick frozen intra-operative telepathology diagnosis in Kyoto, Japan. *Diagn Pathol* 2008, 3 : S6
- 9) 澤井高志：バーチャルスライドへの応用。 *医学のあゆみ* 2010, 234 : 288-291
- 10) 澤井高志, 東福寺幾夫, 古谷敬三 他：地域医療に貢献する医師養成のためのバーチャルスライドを利用した学習ツールの開発に関する研究。平成22年度総括・分担研究報告書, 2011, 69-72
- 11) Weinstein, R.S., Bhattacharyya, A., Yu, Y.P. et al. : Pathology consultation service via the Arizona-International Telemedicine Network. *Arch Anat Cytol Pathol* 1995, 43 : 219-226
- 12) Brauchli, K., Oberli, H., Hurwitz, N. et al. : Diagnostic telepathology : long-term experience of a single institution. *Virchows Arch* 2004, 444 : 403-409
- 13) 木田正敏：今後の日本における大学の病理学講座(分野)の在り方II。米国の現状。 *病理と臨床* 2009, 27 : 1010-1014
- 14) Sawai, T., Uzuki, M., Kamataki, A. et al. : The state of telepathology in Japan. *J. Pathol Inform* 2010, 1 : 13-18
- 15) Weinstein, R.S., Graham, A.R., Richter, L.C. et al. : Overview of telepathology, virtual microscopy, and whole slide imaging. *Human Pathol* 2009, 40 : 1057-1069
- 16) 澤井高志, 長村義之, 吉見直己 他：超高速インターネット衛星“ぎずな”(WINDS)を用いた遠隔病理診断(テレパソロジー)の実証実験(第2報)―岩手-東京-沖縄の3地点を結んでのバーチャルスライドによる遠隔カンファランス。 *医学のあゆみ* 2010, 235 : 204-212

## バーチャルスライドシステムを用いた病理診断支援

飯嶋達生\*  
松野吉宏\*2

## はじめに

適正な医療を行うためには病理診断が必要である。近年の癌診療においても分子標的薬の進歩により病理組織標本での標的蛋白発現の有無やその発現程度の判定等、病理診断の重要性は高まっている。この増加する需要に対して本邦の病理医の数は絶対的に少なく、また地域による病理医の偏在も目立っている。例えば東京都と比較して茨城県では人口10万人あたりの病理医専門医の数が1/3以下である。また都道府県単位でも大学附属病院などに病理医が集中し、500床規模の病院でも常勤の病理医が1人しかいない医療施設が大半である<sup>1)</sup>。1件の病理診断に求められる内容も医療の進歩に伴い高度となってきたおり、「ひとり病理医」では頭の方から足の先まで全ての病理診断を的確かつ迅速に行うことが困難になってきている。病理診断件数の増加と診断内容の高度化に、特に「ひとり病理医」は孤独感を強め疲弊してきている。病理診断業務の負荷軽減を行うために様々な病理診断支援方法が考えられているが、本稿ではバーチャルスライド virtual slide (VS) を活用した病理診断支援を行う具体的な方法について述べる。

VSは病理組織画像を高精細でデジタル記録保存し、サーバーを介して遠隔地でも病理組織画像を観察でき遠隔病理診断に有用な装置である<sup>2)</sup>。VSは瞬時に日本国内どころか世界中の病理医とも組織画像に対して意見交換ができるが、地域内で孤立する病理医の病理診断支援には、まず地域内(県単位程度)でのVSの有効な利用法がある。

そこで本稿では地域内で孤立する病理医を支援するためにはVSをどのようにうまく利用するか、地域内

の利用方法に主眼をおいて、以下の項目の順に「術中迅速診断支援」「病理診断コンサルテーション」「免疫染色等の病理補助診断の集約化」「精度管理支援」に対する事例を紹介し、また「今後の展望」について述べる。

## I. 術中迅速診断へのVSの利用

手術の精度を保証するものとして術中迅速診断は欠かすことのできないものであるが、病理医のいない医療施設では迅速診断を行うことができずにいる。迅速診断が必要な場合、従来は大学病院などの他の医療施設に依頼し、病理医を迅速診断のために派遣してもらい、迅速診断が行われているが、病理医の移動に時間をとられることが障害となっている。この点でVSのもつ病理組織画像を瞬時に遠隔地に送ることができるという利点を生かして、VSを用いた遠隔迅速診断が行われるようになってきている。これにより病理医が病理医不在の医療施設まで迅速診断をするために移動する時間が節約でき、病理医の負担を軽減し、従来は省略されていた迅速診断が行われるようになる。また病理医が常勤でいる医療施設でも、自身の臓器専門性などと異なる病変の迅速診断では、特に「ひとり病理医」は診断に不安を感じることもあり、この場合にはVSを用いることで他医療施設の病理医に即時に迅速症例のコンサルテーションを行うことができ、病理医の精神面の負荷を軽減することにも役立てることができる。岩手県では10年以上前から岩手医科大学を中心に県内の病理医不在医療施設の迅速診断をカバーするために遠隔迅速診断が行われてきたが、2004年からはVSによる遠隔迅速診断が導入され、活用されてきている<sup>3,4)</sup>。また九州では佐賀大学、山陰では鳥取大学、関西では兵庫県立がんセンターなどが中心となって日本各地でバーチャルスライドを用いた遠隔迅速診断が行われるようになってきており、病理医不在の医療施設における迅速診断をカバーし、手術の質を保

\*1 茨城県立中央病院・茨城県地域がんセンター病理診断科

\*2 北海道大学病院病理部

証する努力がなされている。関東では東京など首都圏の交通網が発達している地域では、病理医も比較的多く、直接病理医が、病理医不在の医療施設に出向き、迅速診断を行うことが可能であるため遠隔迅速診断の要求が少ない。しかし茨城県では病理医不在医療施設まで片道1時間以上の移動時間をかけて迅速診断を行うこともあり、また茨城県では病理医の数が少ないので、直接出かけるこの方法では対応できる迅速診断の数にも限りがあるため、本来、術中迅速を行うべき手術でも、迅速診断が行われないうまとなつて手術が多くある。このため茨城県内でもVSによる遠隔迅速診断が行える体制づくりが必要と思われる。しかし茨城県を含め多くの地域でなかなかVSによる迅速診断が導入されない理由としては、①VSの機器が比較的高価であり、医療施設の側に経済的に導入がためられること、②病理医としてはVSが活用されることで、VSでの迅速診断が増加し、迅速診断に拘束されることになるのではないかという懸念があると思われる。

VSの価格問題については迅速診断に必要な機能だけ特化したVSが商品化できれば価格を抑えることが期待できると思われる。VSによる迅速診断の仕事の増加に対する病理医の懸念への対策としては、VSでの迅速診断を担当する病理医を地域内で輪番制として、1人の病理医に負担が集中しない体制をつくることなどが考えられる。

## II. 病理診断コンサルテーションへのVSの応用

現在、医療の飛躍的な進歩から病理医に求められる病理診断の質は高度になり、病理医1人の自己学習、研鑽では全ての疾患領域には対応しきれなくなつてきている。複数の病理医が種々の疾患に対応できる医療施設は限られており、一般には常勤病理医のいる医療施設でも病理医の専門性によって、施設間での病理診断の質が不均等になる可能性があり、ひいては診療の質全体にも影響することが考えられる。このため病理診断の質を向上、均質化していくためには、外部への病理診断コンサルテーションは重要である。代表的なものとして日本病理学会コンサルテーションがあり、また公的機関のコンサルテーションとしては国立がん研究センターがん対策情報センター、国立循環器病研究センター、国立成育医療研究センターがある。また自治体単位や民間団体でのコンサルテーションなど様々な機関、団体で行われている。病理診断コンサル

テーションは一般には依頼情報とともにHE標本や未染標本が依頼病理医から学会等に郵送され、さらに学会等で病理診断コンサルタントに振り分けられて郵送され、コンサルタントの手元に届くことになる。その後、検鏡、診断が行われ、意見等が依頼病理医に返送されることになっている。病理診断に迅速性が要求されている中、病理標本の郵送にかかる日時を短縮するために、VSの瞬時に組織画像を送る特性がコンサルテーションに利用されるようになってきている。また最初のコンサルタントで結論がでず、さらに別のコンサルタントに診断意見を聞く必要がある場合に、従来の方法では、標本を学会等を経由してコンサルタント間で郵送することになり時間を消費することになるが、VSであれば一瞬で次のコンサルタントに組織画像を送ることができ、時間の消費を抑えて複数の診断意見を聞くことができる。さらに郵送中の標本の破損がVSの利用では生じないことも利点といえる。VSの利点を生かすことで病理診断コンサルテーションの時間短縮が可能となることから国立がん研究センターがん対策情報センターの病理診断コンサルテーション・サービスではVS画像とHE染色等の郵送が併用されている。VSを利用した場合には従来のHE染色標本の郵送に比較して、病理診断意見書の作成日数が有意に短くなつてることが国立がん研究センターの長谷部らから報告されており、病理診断コンサルテーションにおいてVSは有用であることが示されている。

しかし日常の病理診断において病理診断に幾分不安が生じるが病理学会等のコンサルテーションに送るほどではないという症例が時々ある。できれば他の病理医の意見を聞き、安心・納得できる身近なコンサルテーションシステムが要望される。従来、近隣の知り合いの病理医のもとに持ち込んで意見を聞くことになるが、そこでも結論が出にくい症例がある。このような場合や複数の病理医の意見を聞きたい場合に、県単位程度の広さの地域内で、問題症例に対する専門性の高い複数の病理医に意見を聞ける敷居の低いコンサルテーションシステムが必要となる。このシステムにもVSを導入することで遠隔地の複数の病理医が同一組織画像をみて標本に対する意見を比較的に迅速に出すことができ、日常の病理診断の質を向上させることが可能となる。三重県では三重大学を中心にテレパソロジーネットワークの構築が行われており地域内でのコンサルテーションが行われてきている<sup>5)</sup>。

問題点としてはVS機器が比較的高価なことから、全ての医療施設にVSを設置するのではなく、地域内



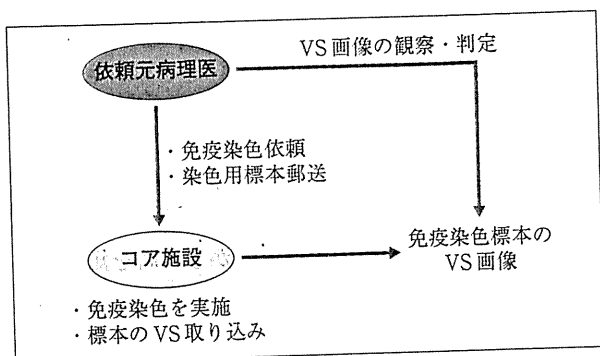


図1 VSを利用した免疫標本作製集約化での標本作製・VS画像の流れ  
 各医療施設の病理医がコア施設に免疫標本作製を依頼し、コア施設では完成した標本をVSに取り込み、依頼した病理医が免疫染色のVS画像を観察して病理診断の補助とする。

(県レベル)で数カ所、コアとなる医療施設にVSを設置し、近隣の医療施設は問題症例の病理標本をコアに送り、ここでVS画像化して地域内の病理医に配信し意見を聞くシステムが考えられる。このコンサルテーションシステムの運営には地域内での病理医の緊密な連携と、大学附属病院の病理部などの病理医の比較的豊富な医療施設がリーダーシップをとっていく必要がある。

### Ⅲ. 免疫染色等の業務の集約化

免疫染色や *in situ* hybridization (ISH) 等の病理補助診断法は、病理診断に必要不可欠となっている。しかし常勤病理医のいる医療施設であっても、免疫染色標本等を作製する人員の不足や、標本作製のための装置・機器、あるいは特殊な検査試薬がないなどから自施設で標本作製が行えない医療施設が少なくない。このような医療施設では検査センター等の外部機関に標本作製等を依頼することになるが、作製依頼を行ってから、依頼した病理医の手元に標本が届くまでには比較的時間がかかり、また費用がかさむ、依頼内容への対応に小回りがきかないなどの点からも、依頼すること自体を躊躇し、免疫染色等を十分行わないまま最終病理診断を報告する場合があります。その結果、免疫染色が行える医療施設と行うことのできない医療施設の間で病理診断の質に差が生じている可能性がある。解決策の一つとして先の地域内コンサルテーションに類似したシステムが考えられる。地域内の医療施設の免疫染色等の病理補助診断標本の作製を、コアの医療機関に集めて行い、作製された免疫染色等の標本画像をVSに取り込み、この画像を依頼した病理医が観察し

て病理診断の補助とする。VSを利用することで、作製された標本の郵送にかかる時間が短縮され、その分、病理診断が迅速に行われることになる。コア施設と依頼した病理医での標本、VS画像のやりとりは図1のようになり、従来の検査センター等外部機関への標本作製と異なる点はVSを利用している点である。地域内での免疫染色等の標本作製をコア施設で行うことで、従来、免疫染色等が行えなかった医療施設の病理医にも免疫染色等の標本による病理補助診断が加えられることで、より質の高い病理診断が行え、病理診断の医療施設間の差を減らすことになると考えられる。特にVSを導入することで免疫染色標本の画像を迅速に病理医が観察できることで、病理診断書作成の日数が短くできることは意義が大きいと考えられる。また時間の短縮のみでなく、既にVS画像となっている点で、この症例を遠隔地の他の病理医にコンサルテーションするときに、即座にコンサルタントにVS画像を閲覧してもらい意見を聞くことができる点も利点と考えられる。

さらに免疫標本等の作製業務を地域内のコア施設で行うことで、免疫染色等の標本作製に関わる人員や機器、器具、試薬の集約化を進めることが可能になり医療資源を効率的に活用することができると思われる。特に年に1~2回しか使用しない抗体などは、1つの医療施設では経済的理由から購入がためらわれるが、多数の施設から免疫染色標本作製を受けるコア施設では、使用頻度が高くなり、利用することが可能となる。

また免疫染色標本等の作製をコア施設に集約化することで均一な高品質の標本作製を行うことができ標本作製の精度管理向上にも役立ち、ひいては病理診断の質の向上にもつながるものと思われる。

実例として茨城県内の医療施設で試験的にVSを利用した免疫染色の集約化を行っている。具体的には筑波大学のつくばヒト組織診断センター (THDC) を免疫染色のコア施設とし、茨城県立中央病院・茨城県地域がんセンターを含む、病理専門医のいる県内4つの医療施設の免疫染色標本の一部作製を行っている。THDCは標本作製を行う技術職員が比較的豊富で機器も拡充されている点およびVS機器を有している点で、免疫染色のコア施設として設定された。基本的には図1で示すように依頼元病理医が未染標本をコア施設のTHDCに郵送し、THDCが免疫染色標本の作製を行い、作製された免疫染色をVSに取り込んでもらい、依頼元病理医はその免疫染色画像をパソコンのモニター上で観察し、病理診断の補助としている。現在

はVSに取り込んだ後、実際に作製された免疫染色標本は依頼元病理医の手元に郵送され、病理医は実物の免疫染色標本を今度は直接検鏡し、VS画像での判断の確認を行っている。これまでのところVSを利用することで、実際の免疫染色標本が郵送され、病理医の手元に届くまでの日数に比べて、2~4日早く、免疫染色の標本画像を観察することができ、病理診断の日数が短縮できることが確認できている。また通常の免疫染色標本においてはVS画像の観察による判断とに違いはみられない。現在まだ試験的に行っている段階で、幾つかの問題点が挙がっている。THDCで作製された免疫染色標本のVSへの取り込み等はTHDCの技師が行っているが、症例が増加した段階でVSへの取り込みや、機器、画像の管理を誰がどのように行うかの運営方法が確定していない点や、VSに取り込まれた免疫染色画像の焦点がずれている場合などの不具合に対して調整の依頼方法が確立されていない点がある。またTHDCから免疫染色標本のVS画像が観察可能となったことをメールを用いて連絡しているが、この方法では依頼した病理医がそのメールを確認するまでの時間が無駄になってしまい、VSによる迅速さという利点が発揮できないことになる。現在はVS画像が観察可能となったことを依頼病理医に迅速に連絡する簡略な方法を模索している段階である。

#### IV. 病理診断および標本作製に対する精度管理へのVSの利用

正しい病理診断は医療において必要不可欠であるが、そのためには病理標本が正しく作製されていることと、病理医が標本を正しく診断することが必要となる。このためには技師による標本作製と病理医による診断の双方に対する精度管理が重要である。ここではVSを利用した精度管理の実例を紹介する。

##### 1. 病理標本作製に対する精度管理

正しい病理診断を行うためには、正しい病理標本が作製されていることが前提となる。

このために病理標本作製の精度管理は重要であり、県単位等の地域内での外部精度管理が行われてきた。従来、標本作製の精度管理は、地域内の医療施設で作製された病理標本を病理医・技師等が検鏡し、その染色性等が判定・評価され、その結果が地域内の参加医療施設に報告されてきた。

北海道では、北海道臨床検査技師会と北海道がんセンター、北海道大学附属病院等による研究で、組織染

色標本作製に対する外部精度管理において、標本に対する評価報告書とともに染色標本のVS画像を参加施設から閲覧できるようにしたところ、評価報告書の理解がしやすくなったとの結果が、北海道がんセンターの東らから報告されている<sup>9)</sup>。

我々も茨城県でVSを利用した病理標本作製の外部精度管理を行っている。茨城県では茨城県臨床検査技師会が年に1回標本作製の精度管理を行っているが、精度管理に迅速性が求められることから3人の病理医・技師で判定・評価が行われてきた。判定者を増やすことでより判定・評価の精度を上げることが期待されるが、判定者が増えることで、判定者への標本郵送にかかる時間の増加や、郵送中の標本の破損の危険性等があり、判定者を増やすことができずにいた。この点でVSは実物の標本を判定者に郵送する必要がなく、VS画像を複数の判定者が随時観察でき、迅速に多数の判定結果を得ることができる利点がある。我々は茨城県臨床検査技師会と共同でVSを利用した標本作製の精度管理を行っている。評価者を従来の3人から10人に増やし、精度管理用に県内18の医療施設で作製された標本(HE染色標本および鍍銀染色標本)のVS画像を基に標本の染色性等を評価してもらうことにしている。評価者を増やすことで評価の精度を上げ、かつVSを利用することで迅速性を維持することができる。また北海道における検討でも明らかになっているように、従来は参加医療施設に評価結果が文章で通知されるだけであったが、VSを利用することで参加医療施設は評価結果とともに作製した標本をVS画像として再度観察することができ、評価結果で指摘された標本作製の問題点をよりの確に把握することができ、精度管理において重要なフィードバックともなる。

##### 2. 病理診断の精度管理

同じ病理標本を検鏡しても病理医間で病理診断名ないし所見のことなることがあるが、ほとんどは診療に影響しない許容範囲内のものと思われる。しかし分子標的薬治療において標的分子に対する免疫染色の評価を正確に行うことが病理医に求められている。このため病理による免疫染色標本の評価に対する精度管理は重要である。精度管理は迅速さが求められるものであり、その点でVSは有用なものと考えられる。ここでは我々がVSを利用した乳癌HER2免疫染色標本の評価の精度管理の実例を紹介する。

主に茨城県内の病院に勤務する15人の病理医に乳癌手術症例に対するHER2免疫染色標本の判定を行っ



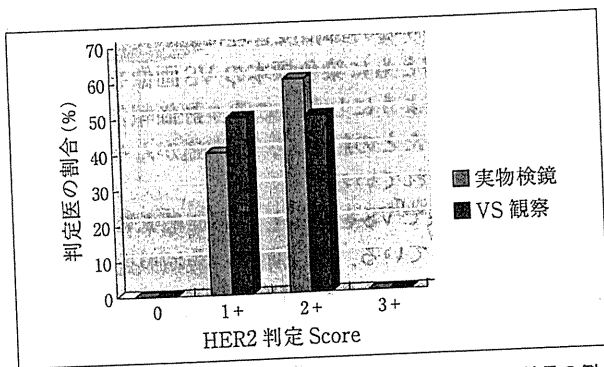


図2 VS画像および実物標本検鏡による乳癌 HER2判定結果の例。乳癌 HER2の判定を15人の病理医に行ってもらい、その判定結果の一例を示す。実物の HER2免疫染色標本を検鏡した結果も VS画像の観察による判定でも、1+と判定する病理医の人数と2+と判定する病理医の数に差はなく、判定が分かれた。また実物検鏡と VS画像観察での判定に大差はみられなかった。

てもらった。判定する症例数は15例で、事前の評価で Score 0~3+の各段階の症例を用いた。判定基準として「HER2アトラス、トラスツズマブ病理部会」を用いた。HER2の判定は VS画像の観察によるものと実際の免疫染色標本の検鏡によるものと両方を行ってもらい、VSと実物検鏡との対比を行った。15人の病理医による評価結果を得るためにかかった時間は VSを用いた方法では約1ヵ月であったが、実物の免疫染色標本を検鏡する方法では約6ヵ月と大きな差があった。実物の免疫染色を検鏡する方法では1人の病理医が1セットの標本を検鏡し、その後、次の病理医に郵送するということを繰り返さなくてはならないが、VSによる方法では複数の病理医がサーバー内の免疫染色画像を同時に観察することが可能で、標本の占有が起らず、また郵送の必要がないなどから判定結果を得る時間の短縮となった。病理医による HER2判定の結果であるが、15例のうちの1例に対する判定結果を図2に示す。この症例は Score 1+と判定する病理医と Score 2+と判定する病理医に大きく別れた。1+の判定では分子標的薬の治療対象とならないが、2+の判定では、FISHを行い分子標的薬治療の対象となることがあり、治療方針に大きく影響する結果となった。このように病理医間での判定に差を認めたが、一つの要因としては病理経験年数が関係し、経験年数の少ない病理医で誤った判定が多い傾向がみられた。また図2にみられるように VSによる判定結果と、実際の免疫染色標本を検鏡して得られた判定結果に大きな差はなく、VSでも精度管理を十分に行うことが可能であることが示された。この検討から治療に直結する

ような免疫染色の判定でも病理医間で判定に見過ごすことのできない差異の存在することが明らかとなり、病理診断において精度管理が重要であることが示された。精度管理では、その結果を対象となった個別の病理医にできるだけ迅速に伝える必要がある点で、精度管理には VSを利用することは大変意義があることと思われる。精度管理の重要性からは1年に1~2回程度の精度管理を行うことが望まれるが、この点では全国規模で精度管理を行うよりも、小回りが利くという点では県単位程度で VSを利用した精度管理を行うことが現実的と考えられる。

## V. VSの問題点と今後の展望

ウィルヒョウ (Virchow) の時代から150年以上、病理医は光学顕微鏡を覗き込み病理診断を行ってきたが、VSの登場によって病理医は顕微鏡の前から解放され、パソコンやタブレット端末があればどこでも好きな時間に病理組織標本を観察することが可能な時代となってきた。現在、病理医の絶対的な不足が問題となっているが、その解決策の一つとして、家庭に入ったり、あるいは定年で第一線を退いた病理医に、VS画像を介した病理診断・病理診断コンサルテーションに参画してもらい、病理医不足を補っていくことが考えられる。この在宅勤務(テレワーク)を実現し、潜在的な力を引き出すためには地域内での病理医関係者の密接なコミュニティが必要となり、そのためにも県単位の病理医関係者の学術集会の開催などは重要と考えられる。こうした業務形態を医療機関として裏づけていく制度的課題にも取り組む必要がある。

ところで従来の光学顕微鏡による検鏡に慣れた病理医にとって VSを利用した病理診断はレンズの狭い視野から広いモニター画面に変わることによって違和感やその操作性の違いから、VS画像で病理診断を行っていかうとする意識や自信をもつことができるかは VSの病理診断への利用普及に重要である。この点に関して茨城県内の病理医を対象にアンケート調査を行ったので、その結果を紹介する。茨城県では茨城病院病理医の会が年2回開催され、検討症例の組織画像を VSで事前閲覧できるようになっている。この VS画像閲覧をしてもらい VSに対するアンケート調査を行った結果、VS画像を閲覧した場所は、約70%の病理医は勤務先での医療施設で閲覧していたが、約30%の病理医は自宅で閲覧しており、どこでも閲覧できる VSの利点が生かされていた。VS画像を閲覧するための操

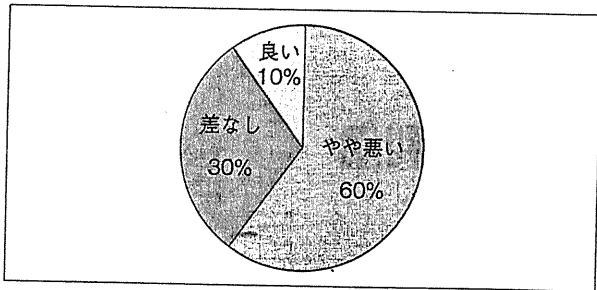


図3 VS画像の画質に対するアンケート調査結果 20人の病理医の回答で、VS画像の画質は実物の病理組織標本を検鏡するのと比較して、60%の病理医がやや悪いが気にならない程度、30%は差がみられないと回答していた。悪いと回答したものはなかった。

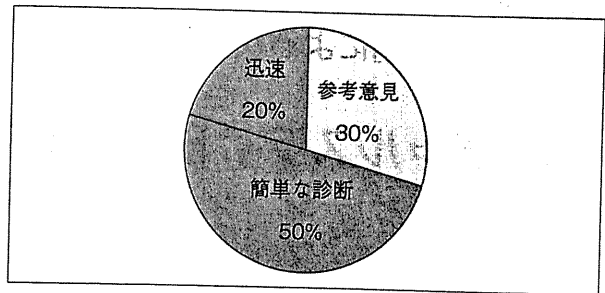


図4 VS画像による病理診断の可能性に対するアンケート調査結果 20人の病理医の回答で、VS画像を基にした病理診断を日常行うことが可能かを調査したところ、参考意見を述べるにとどまるとしたものが30%、胃炎等の簡単な病理診断までは可能としたものが50%、迅速まで可能としたものが20%であった。

作方法については操作が煩雑との回答者はなく、操作方法は全員が理解しやすいとの意見であった。VSの画質についても実物を検鏡するのと大差はみられないとの意見が多かった(図3)。VS画像での病理診断の可能性については図4で示すように簡単な胃炎程度の診断はできるとの回答者と術中迅速診断できるとの回答者の合計で70%であり、VS画像での病理診断が現時点の病理医でもある程度可能であることが示された。しかし30%の病理医はVS画像での病理診断に自信をもてずにいることもあり、今後のVSでの病理診断の普及にはVS画像への慣れが必要と考えられた。

VS画像での病理診断を行う上での問題点としてVS機器やインターネット環境にも改善の余地があるが<sup>7)</sup>、一方で、VS画像を観察する側のパソコン、特にモニターの性能(解像度、明るさ、コントラストなど)は病理診断の質に影響を及ぼす可能性があると思われる。今後、VS本体の性能の向上を目指すだけでなく、画像を受け取る側のパソコン・モニターの信頼性・標準化も進めていく必要があると考えられる<sup>8,9)</sup>。さらに、円滑なVS診断支援体制の運用のためには、こうしたVSやこれを取り巻く技術環境の向上と併せ、VSだけに依存せず、不安や疑問があれば常にガラス標本に戻れる運用上のバックアップ体制を整えておくことも当面必要ではないかと思われる。

現在、医学教育では、従来の光学顕微鏡を用いた病理組織学教育・実習がVSを利用して行われるようになってきている。VSを利用することで医学生の病理学へのイメージが変わり、病理診断ワークスタイルの変化が、病理医を志す若手医師の数の増加に結びつくことも期待される。VSでの実習に慣れた医学生が病理医になることで、将来、病理診断はVSで行うこと

が一般的となるかもしれない。しかし当面、病理医や医療資源の限られた地域ではVSをうまく利用することで、質の高い病理診断を行っていくことが可能と思われるが、そのために周辺機器を含めたVS機器やインターネット環境のさらなる改良整備が重要である。最後にこれらの機器改良やインフラの整備以上に、地域内での病理医の連携がVSをうまく活用して行くための要であり、そのためのコミュニティーづくりが最も重要である。

#### 文 献

- 1) 松野吉宏：バーチャルスライドの応用—厚労省が目指すもの。Medical Technology 2008, 8: 801-803
- 2) Costello, S.S., Johnston, D.J., O'Shea, D.G. et al.: Development and evaluation of the virtual pathology. J Med Internet Res 2003, 5: e11
- 3) 中村真一, 菅井 有, 及川守康 他: virtual slideを用いたテレパソロジー。病理と臨床 2006, 24: 373-378
- 4) 澤井高志, 富地信和, 東福寺幾夫: 遠隔病理診断。病理学と社会。病理と臨床 2009, 27(臨増): 64-72
- 5) 白石泰三, 中野 洋, 渡邊昌俊: テレパソロジーネットワークの構築とその問題点。別冊・医学のあゆみ テレパソロジー2002。2002, 63-66
- 6) 東 学, 丸川活司, 中村厚志 他: 北海道地方におけるバーチャルスライドを活用した病理組織染色外部精度管理報告。医学検査 2010, 59: 835-841
- 7) 宇月美和, 澤井高志: 現状におけるバーチャルスライドの問題点と今後の開発。Medical Technology 2008, 8: 835-838
- 8) Gilbertson, J.R., Ho, J., Parwani, A.V. et al.: Primary histologic diagnosis using automated whole slide imaging: a validation study. BMC Clin Pathol 2006, 6: 4
- 9) 小野定康: テレパソロジーにおけるハード面での問題点。別冊・医学のあゆみ テレパソロジー2002。2002, 44-47

## Cytodiagnosis through use of a z-axis video by volunteer observers: a promising tool for external quality assessment

K. Yamashiro\*, M. Tagami<sup>†</sup>, K. Azuma<sup>‡</sup>, A. Nakamura<sup>§</sup>, O. Kato<sup>†</sup>, K. Taira\*, M. Azuma\*, H. Takeda\* and H. Suzuki\*

\*Division of Pathology, Hokkaido Cancer Center, Kikusui 4-2, Shiroishi-ku, Sapporo, Japan, <sup>†</sup>Cytology Center, Hokkaido Cancer Society, Sapporo, Japan, <sup>‡</sup>Department of Pathology, Sapporo Medical University Hospital, Sapporo, Japan and <sup>§</sup>Department of Laboratory, Sapporo Municipal Hospital, Sapporo, Japan

Accepted for publication 31 March 2010

K. Yamashiro, M. Tagami, K. Azuma, A. Nakamura, O. Kato, K. Taira, M. Azuma, H. Takeda and H. Suzuki

### Cytodiagnosis through use of a z-axis video by volunteer observers: a promising tool for external quality assessment

**Objective:** This study examined whether cytological diagnosis through the use of a video, which shows the changing depth of focus in the microscopic field, described as a z-axis video, is useful compared with a still image.

**Methods:** From 17 cytology preparations of fine needle aspiration of the breast, we made six z-axis videos per case. A frame exhibiting the characteristic features was then extracted from each video and saved as a representative still image. One hundred and twenty-eight volunteer cytotechnologists were randomly divided into two groups of video observers and still image observers. The participants were asked to make a diagnosis of benign, indeterminate, suspicious or malignant without having any clinical information other than the age of the patient. Diagnoses were categorized as 'recommended' or 'unacceptable' according to degree of correlation with histology.

**Results:** The number of definitive diagnoses of 'benign' or 'malignant' were increased in video observers, and indeterminate or suspicious categories were decreased ( $P = 0.013$ ). The distribution of diagnostic categories in three of the 17 cases was significantly different; the distribution in the remaining cases was similar between the two groups. The z-axis video observers may have selected the definite diagnoses with confidence because they observed valuable microscopic findings by 'focusing through observation'. The average number of 'recommended' diagnoses by individual observers was significantly higher in the video observer group than in the still image observer group ( $P = 0.016$ ). In contrast, the average number of 'unacceptable' diagnoses was significantly lower ( $P = 0.019$ ).

**Conclusions:** A z-axis video is easy to obtain and is therefore expected to become a powerful diagnostic modality for the external quality assessment of clinical cytology and even in the field of primary cytodiagnosis.

**Keywords:** cytology, fine needle aspiration, breast, external quality assessment, video, z-axis, microscopy, telepathology, telecytology

### Introduction

Digital image technologies have been applied in various medical situations, and sharing microscopic

images via the internet has established the practical field of telepathology.<sup>1,2</sup> Although the application of this process to cytology has been put forward as telecytology, its use is not yet widespread.<sup>3-11</sup> Some have noted that a still image hinders the growth of telecytology<sup>12</sup> as it merely provides an image of a single focus plane, whereas the cells and cell clusters have obvious three-dimensional structures.

However, new devices such as virtual microscopy,<sup>13-16</sup> with z-stack capability or multiframe video

#### Correspondence:

Katsushige Yamashiro, Division of Pathology, Hokkaido Cancer Center, Kikusui 4-2, Shiroishi-ku, Sapporo 003-0804, Japan  
E-mail: yamasiro@sap-cc.go.jp



imaging along the z-axis,<sup>17</sup> have been introduced and may solve those problems. This study investigated whether a video cell image with changing depth of focus is useful for the external quality assessment of the cytological diagnosis compared with a still image.

## Methods

### *Observation objects*

Seventeen cytology specimens from fine needle aspirations of the breast, which had been stored in the Division of Pathology in the Hokkaido Cancer Center, were selected for this study. All glass slides were stained with the Papanicolaou method. Many specimens had been directly spread onto glass slides and some had been prepared by the SurePath<sup>®</sup> liquid-based cytology method. The diagnosis of each case has been confirmed by histological examination. Six microscopic field images showing distinct cytological features were obtained per case on video while changing the depth of focus (described as a z-axis video) with an objective lens of  $\times 10$  and  $\times 40$ .

The microscopic video images were recorded with an IIDC camera, Scorpion 20SOC (Point Grey Research, Richmond, BC, Canada), which was controlled by Astro IIDC 4.0 (ASC Inc., Calgary, AB, Canada). The depth of microscopic focus was changed by hand with as constant a speed as possible. The movie files were trimmed and encoded by QuickTime Pro (Apple Inc., Cupertino, CA, USA). Finally, z-axis videos were prepared as QuickTime movie files with 24-bit depth RGB colour,  $1024 \times 768$  pixels, 15 fps and H.264 video compression. The average size of the z-axis videos was 5.7 MB, ranging from 1.3 to 11.3 MB. A frame expressing the most characteristic feature was saved from each video file as a representative still image.

The recommended cytodiagnosis of each case was determined prior to the study from four diagnostic categories: benign, indeterminate, suspicious and malignant. 'Indeterminate' approximately corresponds to the term 'atypical' often adopted in other countries. The details of correlation between diagnostic categories and histological diagnosis is shown in Table 2.

### *Observers*

Two hundred and sixty-eight cytotechnologists living in Hokkaido, Japan, were invited to participate voluntarily in this study. There were 175 responses,

and 128 cytotechnologists agreed to be volunteer observers. After preparing the distribution of participants' characteristics, consisting of their career as a cytotechnologist, experience in breast aspiration cytology and familiarity with digital imaging technology, they were randomly assigned to two observer groups.

Compact disks containing z-axis videos were provided to one observer group, while the other observer group received a CD containing the still images. A z-axis video observer was provided with 'focusing through observation' using QuickTime Player, which could be played forwards and backwards repeatedly. QuickTime Player was a free download from the website of Apple Inc., and was provided on the CD for Windows users. Neither the computer or the monitor was prepared for the observers and they observed z-axis videos or still images on their own monitors.

The observers in each group were asked to select a diagnosis for each case out of the four diagnostic categories, without any other clinical information except the age of the patient. The observers were forbidden to consult with their colleagues or friends about the cases.

### *Evaluation methods*

The distributions of the diagnostic categories selected by observers were compared between the two observer groups. In addition, the observer's diagnostic category was also compared with the recommended diagnosis determined in advance. If the observer's diagnostic categories were consistent with the histological diagnosis of benign or malignant, they were evaluated as 'recommended' (for some specific histological diagnoses 'intermediate' was included in this category with 'benign'), and if they disagreed by two or more categories they were evaluated as 'unacceptable' (Table 2). The Intercooled Stata 8.2 software package for Macintosh (StataCorp LP, College Station, TX, USA) was used to compute the statistics.

### *Study management*

The study plan was evaluated by the Ethics Review Committee of the Hokkaido Cancer Center and approved in June 2009. An administration group independent of the researchers managed the study data and none of the researchers could access the personal data, including who participated in the study.

## Results

One hundred and twenty-seven replies were obtained from volunteer observers, and 125 answers without any inadequate descriptions were selected for the analysis. The details of the observers are shown in Table 1. The characteristics of the observers, including their time in cytopathology practice, were established on the basis of information provided by themselves in the application forms used for their participation in the study. Table 2 shows the results of observers' diagnoses. The upper row shows the number of still image observers and the lower row shows the number of z-axis video observers. The overall distribution of diagnostic categories of the two observer groups was significantly different ( $P = 0.013$ ). The z-axis video observers made many definitive diagnoses of 'benign' or 'malignant' and few indefinite diagnoses of 'indefinite' or 'suspicious', in comparison with the still image observers. The same tendency was observed in three cases (cases F, G and P), while the differences between the two observer groups were not statistically significant in the remaining 14 cases.

Both 'recommended' and 'unacceptable' diagnoses were examined to evaluate diagnostic accuracy and the same three cases (F, G and P) were found to be different between the two observer groups. Table 3 shows the frequency of observers for the number of recommended diagnoses. The mode of recommended diagnoses of the z-axis video observers was 15, while that of the still image observers was 13. The mean of the video observers was 13.65 and that of the still image observers was 12.63. The difference was statistically significant ( $P = 0.016$ ). The table also shows the frequency of unacceptable diagnoses. The modes of the z-axis video observers and still image observers were 1 and 2, respectively. The mean of the video observers was 1.21 and that of the still image observers

was 1.65. The difference was statistically significant ( $P = 0.019$ ).

The cytological characteristics of cases F, G and P were reviewed (Figures 1–3). It was difficult to determine the cytodiagnosis depending only on the nuclear atypia. Changing the depth of focus revealed the bilayer structure containing myoepithelial cells in case F, and confirmed the intracytoplasmic lumina in case G. A cribriform pattern was easily detected by 'focusing through observation' in case P.

The technical appraisals by observers were collected as a questionnaire (Table 4). There were 96 answers from the participants. The time required for determining diagnoses by a z-axis video observer was significantly prolonged compared with a still image observer ( $P < 0.001$ ). Though there were quite a few observers who found difficulty in working with a z-axis video ( $P = 0.086$ ), the operation of image files was generally accepted favourably by each observer group.

## Discussion

The use of digital images has increased in the field of clinical cytology and still image telecytology has been introduced.<sup>3–12</sup> Virtual microscope scanners in clinical cytology have also been developed and telecytology using virtual microscopy will be available in the near future.<sup>13–16</sup> However, the applicability of this diagnostic modality remains unclear. On the other hand, the use of video images with changing depth of focus along the z-axis is an attractive modality. A previous report suggested that z-axis video observation was superior to still image observation for diagnostic accuracy.<sup>17</sup> However, that report might be regarded as a technical introduction to this new device without any definitive conclusions, because the results were derived from a small number of participants who were

Table 1. Features of observers (based on self-assessment)

	Career as cytotechnologist (years)			Experience in breast FNA cytology			Familiarity with digital images of cytology		
	< 3	3–10	> 10	> 1 case every few weeks	Inter-mediate	Occasional cases per year	> 1 case every few weeks	Inter-mediate	Occasional cases per year
Still image observers	9	14	39	32	17	13	8	11	43
z-axis video observers	9	15	39	34	16	13	9	12	42

Table 2. Comparison of distribution of cytodiagnoses by two observer groups

Case	Histological diagnosis	Cytodiagnosis by observers				P-value
		Benign	Indeterminate	Suspicious	Malignant	
A	Intracystic papilloma**	26	27	7	2*	0.306
		33	26	2	2*	
B	Fibroadenoma	61	0	0	1*	0.135
		60	3	0	0	
C	Ductal carcinoma	0	1*	6	55	0.401
		0	4*	6	53	
D	Malignant lymphoma	0	0	0	62	0.496
		0	0	2	61	
E	Ductal carcinoma	2*	14*	28	18	0.57
		4*	10*	26	23	
F	Fibroadenoma	27	19	10*	6*	<b>0.02</b>
		40	19	3*	1*	
G	Lobular carcinoma	1*	2*	22	37	<b>0.007</b>
		0	5*	7	51	
H	Phyllodes tumour**	49	6	5	2*	0.907
		51	7	4	1*	
I	Lobular carcinoma	0	0	8	54	0.352
		0	2*	9	52	
J	Ductal carcinoma	0	1*	8	53	0.622
		1*	1*	5	56	
K	Mucinous carcinoma	2*	6*	7	47	0.464
		0	7*	5	51	
L	Ductal carcinoma	1*	3*	3	55	0.795
		0	3*	3	57	
M	Intracystic papilloma**	17	34	6	5*	0.938
		19	31	7	6*	
N	Ductal carcinoma	0	3*	13	46	0.849
		0	2*	12	49	
O	Lactational change**	26	20	6	10*	0.96
		29	20	5	9*	
P	Ductal carcinoma	6*	28*	15	13	<b>0.003</b>
		7*	14*	10	32	
Q	Ductal carcinoma	1*	3*	8	50	0.171
		0	1*	3	59	
Total		219	167	152	516	<b>0.013</b>
		244	155	109	563	

Upper row: number of still image observers. Lower row: number of z-axis video observers.

\*Unacceptable, deviation from 'recommended cytodiagnosis' by 2+ categories.

\*\*Cases in which 'recommended cytodiagnosis' includes 'benign' and 'indeterminate'.

P-value: according to Pearson's chi-squared test

all quite familiar with digital cell images and the images used were diverse. Therefore, the current study was designed to address those issues.

The distributions of diagnostic categories between z-axis video observers and still image observers were significantly different in the current study and it was suggested that the z-axis video observers tended to select a more definitive diagnosis. Closer examinations

of individual cases revealed no difference in 14 of 17 cases. However, the diagnostic categories in three cases were clearly different between two groups. Still image observers' diagnoses tended to remain indefinite because the nuclear atypia of cells in these three cases was obscure, whereas z-axis video observers selected the definite diagnoses with confidence because they easily obtained valuable microscopic



Table 3. Number of recommended and unacceptable cytodiagnoses by each observer

Group	Observers	Mode	Mean	Standard deviation	95% confidence interval		P-value (t-test)
<i>Recommended cytodiagnosis*</i>							
Still image	62	13	12.63	2.39	12.02	13.24	0.016
z-axis video	63	15	13.65	2.27	13.08	14.22	
<i>Unacceptable cytodiagnosis**</i>							
Still image	62	2	1.65	1.12	1.36	1.93	0.019
z-axis video	63	1	1.21	0.94	0.97	0.80	

\*Recommended cytodiagnoses (includes some 'indeterminate' with 'benign', see Table 3).

\*\*Unacceptable, deviation from recommended cytodiagnosis by two or more categories.

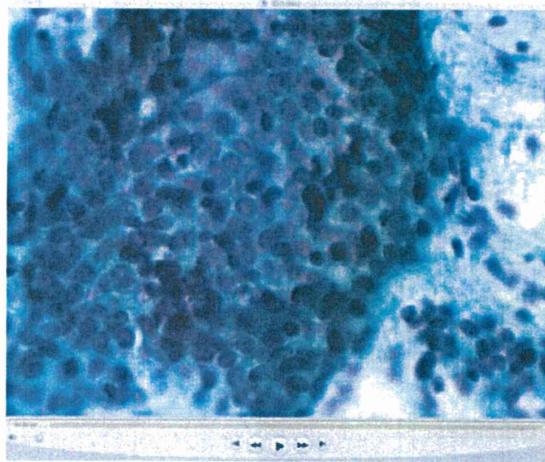


Figure 1. A z-axis video of case F, fibroadenoma. There is a cell cluster containing piled large nuclei accompanied by myoepithelia, showing so called 'bilayer structure'.

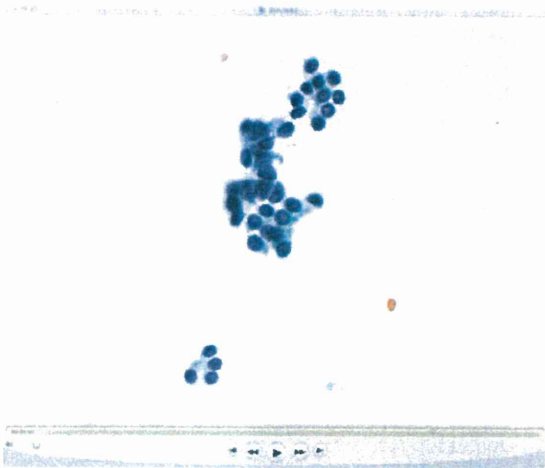


Figure 2. A z-axis video of case G, lobular carcinoma. There are cell clusters containing small but high N/C ratio hyperchromatic nuclei, also sometimes showing intracytoplasmic lumina.

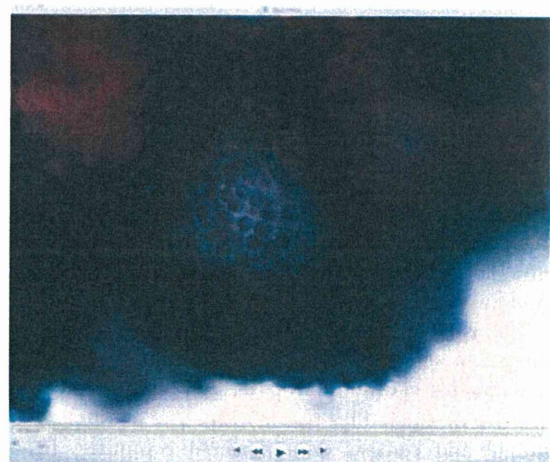


Figure 3. A z-axis video of case P, ductal carcinoma. There is a cell cluster containing many globular acellular spaces, showing so called 'cribriform pattern'. However, the nuclei are relatively small and uniform.

findings such as bilayered structure, cribriform pattern or intracytoplasmic lumina, by 'focusing through observation'. Similarly, the z-axis video observers were more likely to make recommended diagnoses than the still image observers, and less likely to make unacceptable diagnoses with the same three cases (cases F, G and P).

The experiment randomly assigned participants to the two observer groups to avoid maldistribution of observer characteristics. The study has proved the expectations of quality assessment and education suggested in the previous report, based on objective data. Therefore, a z-axis video has an advantage over still images as a tool for external quality assessment.

The major objectives of external quality assessment of clinical cytology are to monitor and improve the consistency of cytodiagnosis and to attain these goals

Table 4. Results of questionnaire concerning technical appraisal of image observation by participants

	How did you feel about working with the image files?				How long did it take you to decide the diagnoses?			
	Easy	Some difficult	Difficult	P-value	< 1 hour	1–2 hours	> 2 hours	P-value
Still image observers	46	3	0	0.0857	24	19	6	<0.001
z-axis video observers	37	9	1		6	24	17	

P-value: according to Pearson's chi-squared test.

it is necessary to observe cell images in various situations.<sup>18–20</sup> Glass slides are the optimal tools for this purpose, but there are considerable limitations to their use. Printed images or digital files on the internet have been used in some large-scale evaluations instead of glass slides. However, many have objected to the limitations posed by observation of a single focus plane image of cells, which have a three-dimensional structure.<sup>12</sup> Therefore, a video image with changing depth of focus might be adopted to achieve that aim. Of course, glass slides cannot be replaced by z-axis videos in all situations of external quality assessment, but they could frequently provide a viable alternative.

The current study provided CDs containing cell images to observers. However, z-axis videos can be downloaded via the internet easily because the average size of movie files was 5.7 MB. The equipment is simple and consists of a personal computer, IIDC camera, relay lens, microscope and some application software. It costs less than \$4 000 US dollars for all of the components other than the microscope. Furthermore, it takes only 2 minutes to prepare a z-axis video file including recording, trimming, resizing, encoding and verifying. Therefore, the external quality assessment of clinical cytology through the use of z-axis videos can be carried out immediately and remotely.

As clinical cytology examines three-dimensional structures, virtual microscope scanners have recently made dramatic improvements. Z-stacked images can be made quickly, and browsing devices can smoothly handle the images. Though there are still many hurdles to clear before virtual microscopy contents can be freely disseminated via the internet, these obstacles are all expected to be overcome in time. However, z-axis video is a currently acceptable tool for external quality assessment and education, and its application should therefore be recommended.

This study does not question the validity of still image telecytology. It only showed the experimental results obtained from a study consisting of volunteer observers and did not deny the significance of still

image observation itself. On the contrary, some still image observers showed an excellent diagnostic accuracy. Still image telecytology continues to be based on the expertise and ability of observers and technicians. The use of z-axis videos in the future is therefore expected to support their efforts, either directly or indirectly, as the need arises.

#### Acknowledgments

We heartily thank the cytotechnologists who willingly participated in this experiment and performed a difficult task. The study was supported by a Grant-in-Aid for Cancer Research from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan.

#### References

- Weinstein RS. Prospects for telepathology. *Hum Pathol* 1986;**17**:433–4.
- Kayser K. Interdisciplinary telecommunication and expert teleconsultation in diagnostic pathology: present status and future prospects. *J Telemed Telecare* 2002;**8**:325–30.
- Marsan C, Vacher-Lavenu MC. Telepathology: a tool to aid in diagnosis and quality assurance in cervicovaginal cytology. *Cytopathology* 1995;**6**:339–42.
- O'Brien MJ, Takahashi M, Brugal G *et al*. Digital imagery/telecytology. International Academy of Cytology Task Force summary. Diagnostic cytology towards the 21st century: an international expert conference and tutorial. *Acta Cytol* 1998;**42**:148–64.
- Galvez J, Howell L, Costa MJ, Davis R. Diagnostic concordance of telecytology and conventional cytology for evaluating breast aspirates. *Acta Cytol* 1998;**42**:663–7.
- Yamashiro K, Kawamura N, Matsubayashi S *et al*. Telecytology in Hokkaido Island, Japan: Results of primary telecytodiagnosis of routine cases. *Cytopathology* 2004;**15**:221–7.
- Jialdasani R, Desai S, Gupta M *et al*. An analysis of 46 static telecytology cases over a period of two years. *J Telemed Telecare* 2006;**12**:311–4.

8. Ayatollahi H, Khoei A, Mohammadian N *et al.* Telemedicine in diagnostic pleural cytology: A feasibility study between universities in Iran and the USA. *J Telemed Telecare* 2007;**13**:363–8.
9. Glatz K, Willi N, Glatz D *et al.* An international telecytologic quiz on urinary cytology reveals educational deficits and absence of a commonly used classification system. *Am J Clin Pathol* 2006;**126**:294–301.
10. Kerr SE, Bellizzi AM, Stelow EB, Frierson HF Jr, Policarpio-Nicolas ML. Initial assessment of fine-needle aspiration specimens by telepathology: Validation for use in pathology resident-faculty consultations. *Am J Clin Pathol* 2008;**130**:409–13.
11. Archondakis S, Georgoulakis J, Stamataki M *et al.* Telecytology: a tool for quality assessment and improvement in the evaluation of thyroid fine-needle aspiration specimens. *Telemed J E Health* 2009;**15**:713–7.
12. Pantanowitz L, Hornish M, Goulart RA. The impact of digital imaging in the field of cytopathology. *Cytojournal* 2009;**6**:6.
13. Gagnon M, Inhorn S, Hancock J *et al.* Comparison of cytology proficiency testing: Glass slides vs. virtual slides. *Acta Cytol* 2004;**48**:788–94.
14. Marchevsky AM, Khuranna R, Thomas P *et al.* The use of microscopy for proficiency testing in gynecologic cytopathology: A feasibility study using Scan Scope. *Arch Pathol Lab Med* 2006;**130**:349–55.
15. Dee FR, Donnelly A, Radio S *et al.* Utility of 2-D and 3-D virtual microscopy in cervical cytology education and testing. *Acta Cytol* 2007;**51**:523–9.
16. Mori I, Nunobiki O, Ozaki T, Taniguchi E, Kakudo K. Issues for application of virtual microscopy to cytoscreening, perspectives based on questionnaire to Japanese cytotechnologists. *Diagn Pathol* 2008;**3**(Suppl 1):S15.
17. Yamashiro K, Taira K, Matsubayashi S *et al.* Comparison between a traditional single still image and a multiframe video image along the z-axis of the same microscopic field of interest in cytology: which does contribute to telecytology? *Diagn Cytopathol* 2009;**37**:727–31.
18. Wells CA. Quality assurance in breast cancer screening cytology: a review of the literature and a report on the U.K. *Eur J Cancer* 1995;**31**:273–80.
19. Cross P, Shiell A. Cervical cytology EQA – the Northern experience. *Cytopathology* 2001;**12**:94–103.
20. Slater DN, Hewer EM, Melling SE, Rice S. External quality assessment in gynaecological cytology: the Trent Region experience. *Cytopathology* 2002;**13**:206–19.



# Gleason Score Correlation Between Biopsy and Prostatectomy Specimens and Prediction of High-grade Gleason Patterns: Significance of Central Pathologic Review

Kentaro Kuroiwa, Taizo Shiraishi, and Seiji Naito, for the Clinicopathological Research Group for Localized Prostate Cancer Investigators

<b>OBJECTIVES</b>	To investigate the significance of dedicated central pathologic review for Gleason score (GS) correlation between the biopsy and radical prostatectomy (RP) specimens and the prediction of high-grade Gleason patterns. A discrepancy in the GS between the biopsy and RP specimens has been reported.
<b>METHODS</b>	The Clinicopathological Research Group for Localized Prostate Cancer disease registry collated the data from 1629 patients who had undergone RP from 1997 to 2005. All biopsy and RP specimens were retrospectively re-evaluated by 2 central uropathologists according to the International Society of Urological Pathology consensus. The GS correlation between the biopsy and RP specimens and the presence of high-grade Gleason patterns (4 or 5) were recorded. The GS was categorized into 5 groups (2-4, 5-6, 3 + 4, 4 + 3, and 8-10).
<b>RESULTS</b>	Central review significantly increased the exact concordance rate and decreased the undergrading and overgrading rates between the biopsy and RP specimens compared with local review ( $P < .05$ for all). In each GS or prostate-specific antigen group, the central review biopsy GS had a significantly greater exact concordance rate with the RP specimen GS compared with the local review biopsy GS ( $P < .05$ for all). Regarding high-grade Gleason patterns in the RP specimens, central review showed significantly greater sensitivity, positive predictive value, and negative predictive value than local review ( $P < .05$ for all).
<b>CONCLUSIONS</b>	We have demonstrated that central review using the International Society of Urological Pathology consensus improves the GS correlation and better predicts high-grade Gleason patterns compared with local review. We recommend central pathologic review by dedicated uropathologists for multi-institutional studies using data from prostate biopsy and RP specimens. UROLOGY 77: 407-411, 2011. © 2011 Elsevier Inc.

The Gleason grading system, proposed by Gleason<sup>1</sup> and represented as the Gleason score (GS) for each case, is the most widely used histologic grading system for prostate cancer. The GS in both biopsy and radical prostatectomy (RP) specimens is a powerful prognostic factor.<sup>2,3</sup> Accurate GS correlation between the biopsy and RP specimens is mandatory for preoperative estimation of the disease and for the planning treatment of each patient. However, the biopsy GS has been reported to have been undergraded in 18%-60% and

overgraded in 6%-25% of specimens compared with the RP specimen GS.<sup>4-11</sup> Investigator error is one important factor for the discrepancy; thus, pathologic assessment by dedicated uropathologists might improve the GS correlation between the biopsy and RP specimens. Modern GS assessment according to the 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) consensus, reflecting contemporary changes regarding prostate cancer and the Gleason grading system, has shown better GS correlation than the previous assessment.<sup>12</sup> Pathologic assessment by dedicated uropathologists in a single academic institution has also shown better GS correlation than outside assessment.<sup>6,11</sup> However, the usefulness of pathologic assessment by dedicated uropathologists using the ISUP consensus for a large RP series from multiple institutions has not yet been studied.

Although high-grade Gleason patterns (4 or 5) in RP specimens, either a primary/secondary pattern or a ter-

This study was funded by the Clinical Research Foundation.

From the Department of Urology, Kyushu University Graduate School of Medical Sciences, Fukuoka, Japan; and Department of Pathologic Oncology, Mie University Graduate School of Medicine, Tsu, Japan

Reprint requests: Kentaro Kuroiwa, M.D., Ph.D., Department of Urology, Kyushu University Graduate School of Medical Sciences, 3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582 Japan. E-mail: humeiten@hotmail.com

Submitted: April 30, 2010, accepted (with revisions): May 22, 2010

tiary pattern, have been reported to be related to a poor outcome, it remains unclear how effectively the biopsy GS determined by pathologic assessment by dedicated uropathologists will predict for high-grade Gleason patterns in the RP specimens.<sup>13-15</sup>

In the present, large-scale, multicenter study, we used the pathologic assessment by dedicated uropathologists according to the ISUP consensus for the biopsy and RP specimens from a large RP series with high-grade biopsy GSs using data from the Clinicopathological Research for Localized Prostate Cancer (CRPC) disease registry. The CRPC collates data from patients with clinically localized prostate cancer accrued from 108 academic and community practices throughout Japan. From 1997 to 2005, approximately 5000 patients with clinically localized prostate cancer who had undergone RP were consecutively enrolled into the CRPC registry after obtaining institutional review board approval from each institution.

## MATERIAL AND METHODS

### Patient Population

According to the CRPC data, the pathologic slides of the biopsy and RP specimens were available for 1650 patients with Stage cT1c-T3 disease and no preoperative therapy at 48 institutions that agreed to send the pathologic slides for central review. After excluding 21 patients (1.3%) without cancer cells in the biopsy specimens by central review, 1629 patients constituted the final cohort for the present study. In all patients, the diagnosis was made by systemic biopsy ( $\geq 6$  cores). A total of 365 patients (22.4%) had only 6 cores taken at biopsy; 760 patients (46.7%) had  $\geq 10$  cores on taken at biopsy. The median number of biopsy cores taken was 8 (range 6-33). All RP specimens were processed using the whole mount technique at each institution. Preoperative information, including the serum prostate-specific antigen levels, and the original pathologic reports were available for all patients. The clinical stage was determined from the digital rectal examination findings and assigned according to the 2002 American Joint Committee on Cancer staging system.

### Pathologic Analysis

The biopsy GS of each patient's original pathologic report was recorded as the local review biopsy GS. All pathologic slides and the biopsy and RP specimens were sent to, and reviewed by, 2 dedicated uropathologists (K.K. and T.S.) who were unaware of the original pathologic reports of each patient. In addition, the 2 uropathologists were unaware of the results from the biopsy specimens of each patient when reviewing the matching RP specimens, because the review of the RP specimens was separated from the review of the biopsy specimens. The Gleason pattern was assigned as the central review biopsy and RP GS according to the modified Gleason grading system using the ISUP consensus.<sup>16</sup> The GS was categorized into 5 groups (2-4, 5-6, 3 + 4, 4 + 3, and 8-10). For the biopsy specimens with multiple positive cores, a global GS was recorded, because the GS of each core was not available in most (>95%) of the original pathologic reports. For central review, the reporting rules for a secondary pattern occupying <5% and a tertiary

pattern conformed to the ISUP consensus.<sup>16</sup> For the RP specimens, the global GS considering the entire tumor within the prostate as 1 lesion was recorded. A tertiary Gleason pattern in the RP specimens was not reflected as a primary or secondary pattern on the final RP GS. The presence of high-grade Gleason patterns (4 or 5), including tertiary patterns, in the RP specimens was recorded.

### Statistical Analysis

Spearman's rank correlation coefficients for the GS in the biopsy and RP specimens were generated. The chi-square test was used for the comparison of the exact GS concordance rate between the local and central pathologic review and for the sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value for the depiction of high-grade Gleason patterns. Two-sided *P* values were calculated; the significance level was set at 5%. All statistical analyses were performed using the Statistical Package for Social Sciences, version 17.0 (SPSS, Chicago, IL).

## RESULTS

### Clinical Characteristics

For the 1629 patients whose CRPC data were analyzed, the median age was 65 years (range 44-84), and the median prostate-specific antigen level 8.0 ng/mL (range 0.5-85.9). Of the 1629, patients, 1058 (64.9%) had Stage cT1c disease.

### GS in Biopsy and RP Specimens

By central review, no patient (0%) had GS 2-4 disease in the biopsy specimens compared with 107 patients (6.6%) who had GS 2-4 by local review. Of the 107 patients with local review biopsy GS of 2-4, central review found a biopsy GS of 5-6, 3 + 4, 4 + 3, and 8-10 in 66 (61.7%), 35 (32.7%), 4 (3.7%), and 2 (1.9%), respectively. In the other GS groups, the distribution of the central biopsy GS was 5-6 in 545 (33.5%), 3 + 4 in 602 (37.0%), 4 + 3 in 257 (15.8%), and 8-10 in 225 (13.8%). The corresponding distribution by local review for the biopsy GS was 687 (42.2%), 379 (23.3%), 192 (11.8%), and 264 (16.2%; Table 1). Of the patients with a biopsy GS of 5-6, 3 (0.6%) of 545 by central review and 138 (20.1%) of 602 by local review had GS 5. Exact concordance between the local and central biopsy GS was observed for 841 patients (51.6%). The undergrading and overgrading rate for local review was 32.6% and 15.8%, respectively. Spearman's rank correlation coefficient for local biopsy GS and central biopsy GS was 0.607. The central review RP GS distribution for GS 5-6, 3 + 4, 4 + 3, and 8-10 was 423 (26.0%), 675 (41.4%), 363 (22.3%), and 168 (10.3%), respectively.

### GS Correlation Between Biopsy and RP Specimens

Table 2 lists the correlation between the local review biopsy GS and central review RP GS. The exact concordance rate and the concordance rate within  $\pm 1$  GS group was 41.3% (672 of 1629) and 81.7% (1331 of 1629), respectively. The undergrading and overgrading rate for

**Table 1.** Biopsy Gleason score correlation between local review and central review

Local Review Biopsy GS	Central Review Biopsy GS (n)					Exact Concordance Rate (%)	Local Review	
	2-4	5-6	3 + 4	4 + 3	8-10		Undergrading Rate (%)	Overgrading Rate (%)
2-4 (n = 107)	0	66	35	4	2	0.0	100.0	0.0
5-6 (n = 687)	0	388	233	50	16	56.5	43.5	0.0
3 + 4 (n = 379)	0	64	225	62	28	59.4	23.7	16.9
4 + 3 (n = 192)	0	13	60	84	35	43.8	18.2	38.0
8-10 (n = 264)	0	14	49	57	144	54.5	0	45.5
Total (n = 1629)	0	545	602	257	225	51.6	32.6	15.8

GS, Gleason score.

**Table 2.** Gleason score correlation between local review biopsy and central review prostatectomy specimens

Local Review Biopsy GS	Central Review RP GS (n)					Exact Concordance Rate (%)	Undergrading Rate in Biopsy (%)	Overgrading Rate in Biopsy (%)
	2-4	5-6	3 + 4	4 + 3	8-10			
2-4 (n = 107)	0	42	48	14	3	0.0	100.0	0.0
5-6 (n = 687)	0	282	286	97	22	41.0	59.0	0.0
3 + 4 (n = 379)	0	73	204	86	16	53.8	26.9	19.3
4 + 3 (n = 192)	0	16	65	85	26	44.3	13.5	42.2
8-10 (n = 264)	0	10	72	81	101	38.3	0.0	61.7
Total (n = 1629)	0	423	675	363	168	41.3	39.3	19.5

RP, radical prostatectomy; GS, Gleason score.

**Table 3.** Gleason score correlation between central review biopsy and prostatectomy specimens

Central Review Biopsy GS	Central Review RP GS (n)					Exact Concordance Rate (%)	Undergrading Rate in Biopsy (%)	Overgrading Rate in Biopsy (%)
	2-4	5-6	3 + 4	4 + 3	8-10			
2-4 (n = 107)	0	0	0	0	0	—	—	—
5-6 (n = 687)	0	335	173	27	10	61.5	38.5	0.0
3 + 4 (n = 379)	0	83	391	113	15	65.0	21.3	13.8
4 + 3 (n = 192)	0	2	76	160	19	62.3	7.4	30.4
8-10 (n = 264)	0	3	35	63	124	55.1	0.0	44.9
Total (n = 1629)	0	423	675	363	168	62.0	21.9	16.1

Abbreviations as in Table 2.

the biopsy specimens was 39.3% and 19.5%, respectively. Of the 107 patients with a biopsy GS of 2-4, all had an RP GS of  $\geq$ 5-6, including 65 patients (60.1%) with a RP GS of  $\geq$ 7. Spearman's rank correlation coefficient for the local biopsy GS and central RP GS was 0.459.

Table 3 lists the correlation between the central biopsy GS and the central RP GS. The exact concordance rate and the concordance rate within  $\pm$ 1 GS group was 62.0% (1010 of 1629) and 94.4% (1537 of 1629), respectively. The undergrading and overgrading rate for the biopsy specimens was 21.9% and 16.1%, respectively. Central review had a significantly greater exact concordance and lower undergrading and overgrading rates than did the local review ( $P < .05$  for all). Spearman's rank correlation coefficient for central biopsy GS and central RP GS was 0.687. In each GS group, the central review biopsy GS (GS 5-6, 61.5%; 3 + 4, 65.0%; 4 + 3, 62.3%; and 8-10, 65.1%) had a significantly greater exact concordance rate than did the local review biopsy GS (GS 5-6, 41.0%; 3 + 4, 53.8%; 4 + 3, 44.3%; and 8-10, 38.3%;  $P < .05$  for all). In each prostate-specific antigen group, the central review biopsy GS ( $<$ 4.0 ng/mL, 56.6%; 4.1-10 ng/mL, 64.1%; 10.1-20 ng/mL, 60.7%; and

$>$ 20 ng/mL, 56.4%) had a significantly greater exact concordance rate than the local review biopsy GS ( $<$ 4.0 ng/mL, 56.6%; 4.1-10 ng/mL, 64.1%; 10.1-20 ng/mL, 60.7%; and  $>$ 20 ng/mL, 56.4%;  $P < .05$  for all).

### High-Grade Gleason Patterns (4 or 5)

The number of patients with Gleason pattern 4 or 5 in the biopsy GS as a primary or secondary pattern was 846 (51.9%) in the local review and 1084 (66.6%) in the central review.

Overall, 1371 patients (84.2%) had Gleason pattern 4 or 5 on RP specimens on the central pathology review of the RP specimens. Of these, 1206 (88.0%) had Gleason pattern 4 or 5 as the primary or secondary pattern. The remaining 165 (12.0%) with RP GS 3 + 3 had a high-grade Gleason pattern of  $<$ 5% on the RP specimens.

Table 4 lists the correlation of high-grade Gleason patterns between the biopsy GS and RP specimens. The central review GS had significantly greater sensitivity and a significantly greater positive and negative predictive values ( $P < .05$  for all).