

病理組織学的検査

はじめに

平成 12 年度精度管理調査は弾性線維および、膠原線維の染色法として常用されている Elastica van Gieson (EVG) 染色について施行した。

I. 材料および実施方法

材料はヒト大腸の外科材料を用い 20% 中性緩衝ホルマリンで一晩固定後、パラフィンブロックを作製、4 μ m で薄切した未染色標本を 2 枚ずつ、参加 40 施設に染色方法のアンケートと共に配布し、その内良好な物一枚を回収した。

今回配布した標本で染色途中で剥がれてしまったという報告をいくつかいただきました。薄切後の乾燥が不十分であったことが原因と思われます。各施設にはご迷惑をかけたことをお詫びします。よって切片の剥離等による評価は対象外としました。

II. 判定評価方法

1. レゾルシンフクシンによる弾性線維の染色性

- ① 筋動脈の内弾性板および弾性線維
- ② 結合織、核への共染
- ③ 評価判定外ではあるが酸性粘液(粘膜上皮)の染色性についても見た。

2. 核染色

- ④ 核の染色性と共染の具合

3. ワンギーソン液

- a) 酸フクシン、シリウスレッドの染色性
- ⑤ 筋動脈の外膜および膠原線維
- ⑥ 基底膜
- ⑦ 結合織の共染
- b) ピクリン酸の染色性
- ⑧ 筋動脈の中膜
- ⑨ 細胞質

以上を総合判定し以下の 3 段階に分類した

A: 優秀 B: 普通(診断に支障はない) C: 不十分

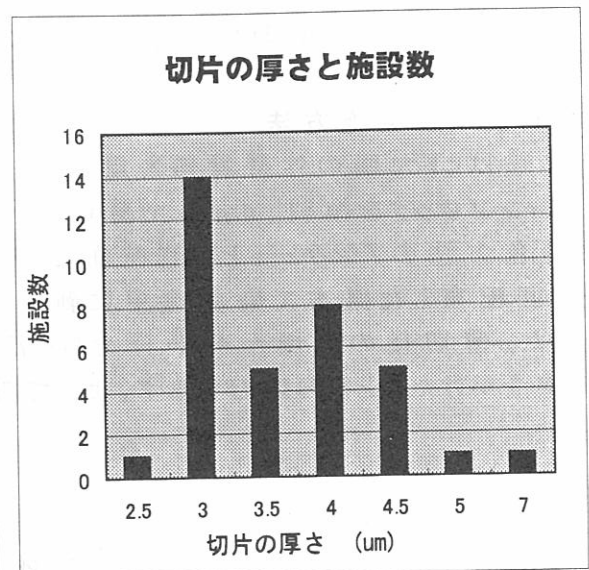
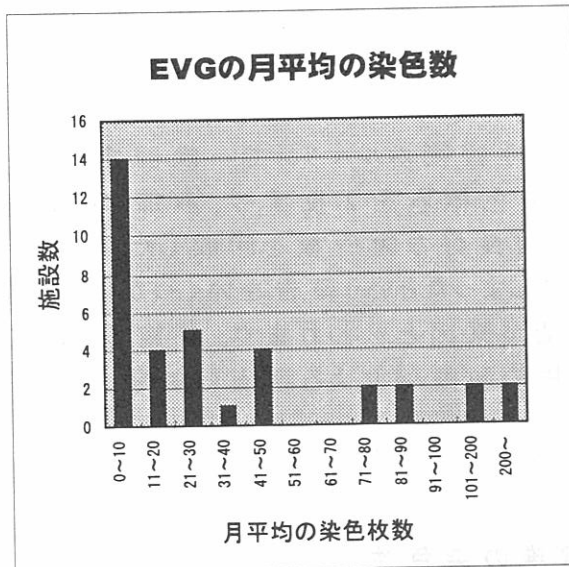
III. 結果

1. 標本の回収状況

登録衛生検査所 8 施設中 7 施設(88%)、一般病院 32 施設中 31 施設(97%)よりアンケートの回答と標本の回収が得られた。

2. 染色枚数および薄切切片の厚さ

一ヶ月における染色枚数は0~300枚と施設間の差が大きい。10枚以下の施設数の割合は検査所が約70%なのに対して病院が約30%と違いがあった。切片の厚さは3~4.5 μm に集中していて検査所で平均3.2、病院で3.8 μm とやや検査所の方が薄い傾向にあった。



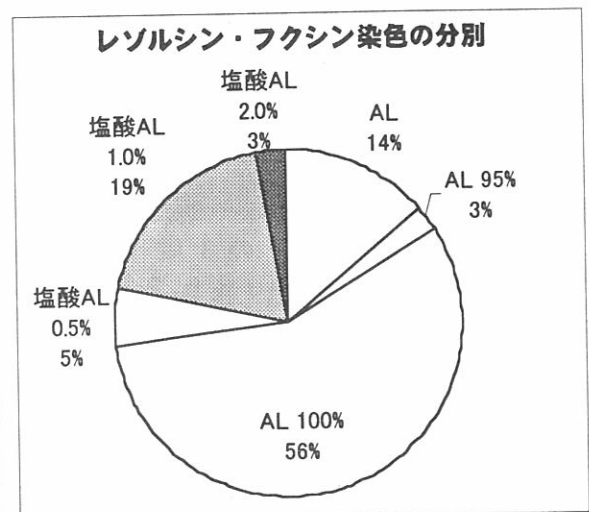
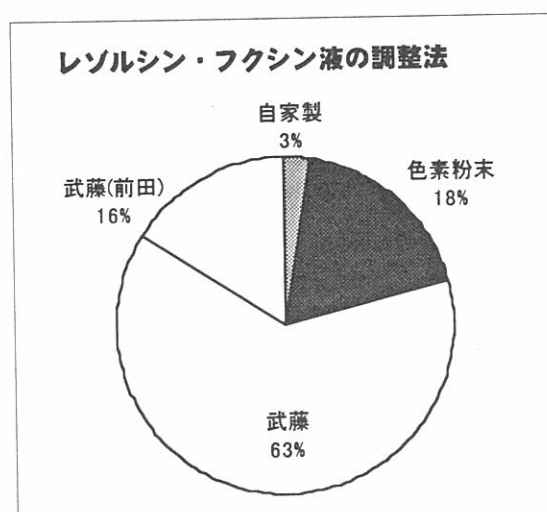
3. レゾルシンフクシン

① 試薬の調整法

内訳は自家調製:1、色素粉末使用:7、市販品:30施設であった。市販品はすべて武藤化学製であり、そのうち6が前田変法であった。染色時間は15分から一晩と幅広く、その中では30分から3時間が最も多かった。染色性はどの施設も良好であった。

② 分別操作

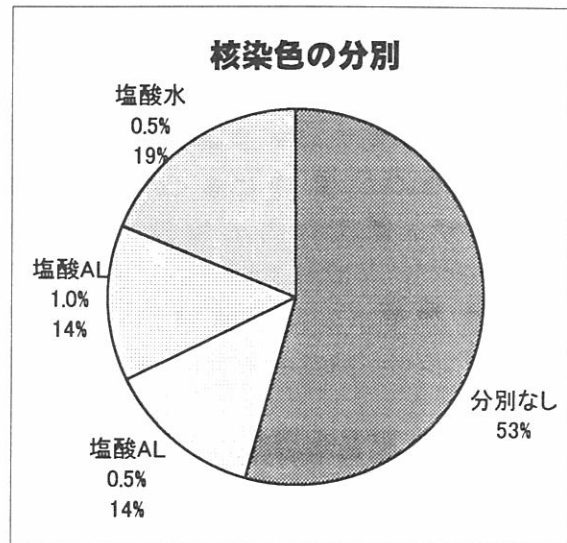
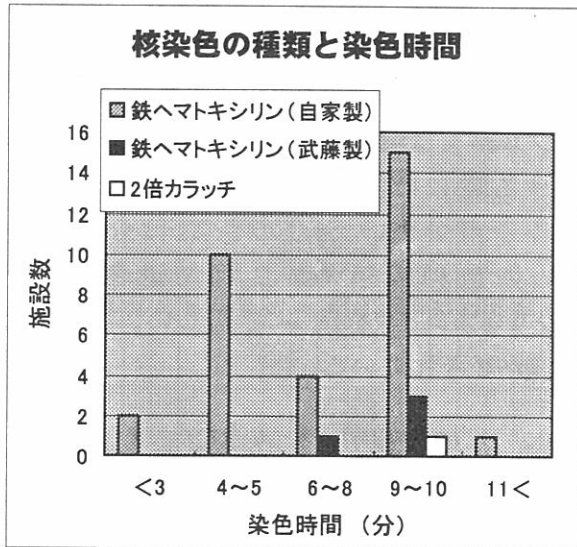
レゾルシンフクシン染色後の分別はほとんどの施設で行っており、アルコール(ほとんどは100%アルコール)が27、塩酸アルコールが10(1%塩酸が最も多く7)施設であった。



4. 核染色

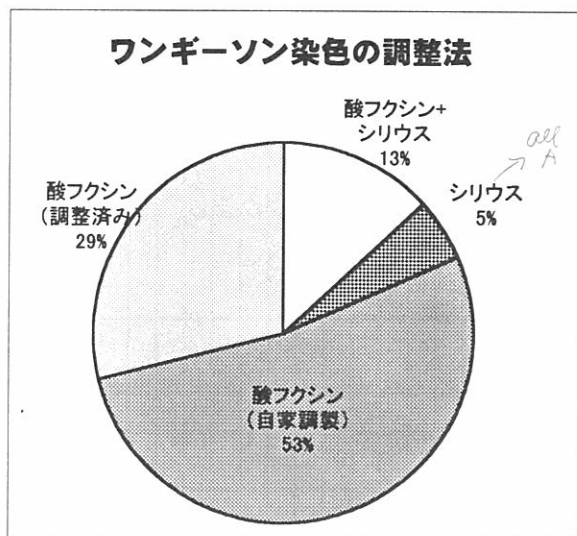
一施設(2倍カラッチ)を除いて全て鉄ヘマトキシリン(一施設が2倍鉄ヘマトキシリン使用)であり、その中4施設が市販品(武藤化学製)であり、他は自家製であった。時間は4分から10分が最も多かった。染色時間と染色性との間にはあまり相関関係は認められなかった。

核染色の後の分別は半数が分別無しで、あとは塩酸アルコール、塩酸水であった。



5. ワンギーソン染色

酸フクシン単独が31施設で7施設がシリウスレッド(酸フクシンとの混合を含む)であった。酸フクシンの試薬メーカー、濃度、および染色時間と染色性の間には明確な相関が見られなかった。酸フクシンとシリウスレッドではシリウスレッドを用いた方が染色性が良かった。



ワンギーソン染色の色票と染色時間

色素	メーカー	染色時間(分)				合計
		0~1	2~5	6~10	11~	
酸フクシン	武藤	2	8	1	0	11
酸フクシン	メルク	1	5	6	0	12
酸フクシン	クロマ	0	0	2	0	2
酸フクシン	和光	0	1	0	1	2
酸フクシン	関東	0	0	0	1	1
酸フクシン	純正	0	0	0	1	1
酸フクシン+シリウス	各種	0	0	4	1	5
シリウスレッド	クロマ	0	0	1	1	2

6. 総合判定

Aクラスの標本が9(23.7%)、Bクラスが28(73.7%)、Cクラスが1(2.6%)であった。

IV. 総評

弾性線維の染色性は全ての施設で満足できる結果であった。これは従来レゾルシンフクシン液の作成過程は煩雑で出来不出来の差が大きいものであったのだが、今回自家製を用いた施設が一施設だったことから分かるように、ほとんどの施設が市販品を使用していたので、染色性に差はあまり見られなかったと考える。ただ市販品は染色性が強いので染色時間は1時間以内にとどめた方がよい。

したがって、評価の差は核、および膠原線維の染色性の差に基づくものとなった。特に膠原線維による差が著しく、共(強)染が生じないようにいかに膠原線維を染色するかが最も大きなポイントと考える。ピクリン酸、酸フクシン(シリウスレッド)共に使用するたびに色素が減少して色のバランスが変わるので、前回からの未使用期間が長い場合、一度に多くの切片を染色するには注意して欲しい。

A ランク9施設の内6施設でシリウスレッドを用いていた。この色素は分子量が酸フクシンに比べて大きいため、基底膜などの染色性は極めて良好で退色しにくい。酸フクシンの染色性で問題がある施設はシリウスレッドを試みて欲しい。ちなみに武藤化学社より1%シリウスレッドの染色液が販売されている。

参考までに今回最も良かった施設の染色手技を記載しておくので参考にして欲しい。

1. 脱パラフィン
2. 無水アルコール 5分
3. レゾルシン・フクシン液(武藤化学製) 30分
4. 無水アルコール(分別) 3dip x 2
5. 鉄ヘマトキシリン 10分
6. 色出し 5分
7. ワンギーソン液 10分
(飽和ピクリン酸 50ml + 1%酸フクシン 5ml + 1%シリウスレッド 2ml)
8. ろ紙で軽く挟む
9. 無水アルコール 3分
10. キシロール(透徹) 5分

EVG染色集計一覧

施設番号	薄切		弾性 (レゾルビンクワシク)				核染色				ロンギーン染色				総合判定			
	染色/月	厚さ/um	調整法/メーカー	時間(hr)	弾性繊維	粘液	染色液	時間(分)	分別	判定	調整法	染色液	メーカー	時間(分)		外膜	基底	共染
1	90	3	武藤	1	AL	自家	自家	10	塩酸AL 0.5%	2	自家	酸フクジン 0.18%	関東	20	2	2	1	B
2	5.5	3.5	武藤	2.5	塩酸AL 1.0%	自家	自家	3	塩酸AL 0.5%	3	調整済	酸フクジン	武藤	0.5	2	1	1	B
7	3.5	3	武藤	1~18	AL 100%	武藤	武藤	8	塩酸AL 1.0%	1	調整済	酸フクジン	武藤	5	2	1	0	B
20	0	0	武藤	1~12	AL 100%	自家	自家	5	NO	2	調整済	酸フクジン	武藤	3	1	1	0	B
27	30	3	自家	1~12	AL 100%	自家	自家	5	NO	1	自家	酸フクジン 0.2%		10	1	1	0	B
42	0.42	3	武藤	0.25	塩酸AL 1.0%	自家	自家	5	塩酸水 0.5%	3	調整済	酸フクジン	武藤	2	1	1	0	G
49	0.83	3.5	武藤	1.5	塩酸AL 1.0%	自家	自家	5	塩酸水 0.5%	3	調整済	酸フクジン	武藤	0.7	2	1	2	B
51	30	4	武藤(前田)	1.5	AL 100%	自家	自家	10	塩酸AL 1.0%	2	自家	シリウスレット	クロマ	15	3	3	0	A
55	2.5	2.5	武藤	2	塩酸AL 1.0%	自家	自家	10	塩酸水 0.5%	2	自家	酸フクジン	クロマ	2	3	2	2	B
58	36	4	武藤(前田)	0.5	AL 100%	自家	自家	8	NO	2	自家	酸フクジン	メルク	8	2	1	0	B
60			武藤			自家	自家			2	自家	酸フクジン	関東	2	1	1	1	B
61	0.2	4	色素粉末	1.5	塩酸AL 1.0%	自家	自家	6	塩酸水	2	自家	酸フクジン+シリウス	メルク/クロマ	10	3	2	1	B
66	2	4.5	武藤	2	AL 100%	武藤	武藤	10	NO	2	調整済	酸フクジン	武藤	3	1	1	0	B
68	3	7	色素粉末	3.5	塩酸AL 2.0%	自家	自家	5	NO	2	自家	酸フクジン 0.08%	純正化学	30	2	2	0	B
70	150	4.5	武藤	4~12	AL 100%	自家	自家	10	NO	3	自家	酸フクジン 0.13%	メルク	3	2	1	1	B
74	20	3.5	武藤	1	AL 100%	自家	自家	5	NO	2	自家	酸フクジン 0.13%	メルク	10	2	2	0	B
75	90	3	武藤(前田)	0.5	AL	自家	自家	15	塩酸AL 1.0%	2	自家	酸フクジン+シリウス	和光/クロマ	10	3	3	0	A
76	30	3	武藤	1	AL 100%	自家(X2カ ラツチ)	自家	10	NO	1	調整済	酸フクジン	武藤	4	3	3	1	B
77	75	3	武藤(前田)	0.5	AL 100%	自家	自家	10	塩酸水 0.5%	3	調整済	酸フクジン	武藤	5	2	1	0	B
82	50	4	色素粉末	1.5	塩酸AL 1.0%	自家(X2)	自家	10	塩酸AL 1.0%	2	自家	酸フクジン 0.13%	メルク	10	3	1	0	B
83	20	3.5	武藤	0.5	AL 100%	自家	自家	10	NO	3	自家	酸フクジン+シリウス	和光/クロマ	10	3	2	0	A
84	135	3.5	武藤	0.8	AL	自家	自家	5	塩酸水 0.5%	3	自家	酸フクジン 0.15%	メルク	0.8	3	3	0	A
86	7.5	4.5	武藤	0.5	AL 100%	武藤	武藤	10	塩酸AL 0.5%	3	調整済	酸フクジン	武藤	10	1	1	0	B
90	300	4.5	武藤	0.5	塩酸AL 1.0%	自家	自家	10	塩酸AL 1.0%	2	自家	酸フクジン+シリウス	クロマ/クロマ	15	3	3	0	A
94	0.01	4	色素粉末	0.8	AL	自家	自家	1.5	NO	2	自家	酸フクジン 0.13%	クロマ	8	2	1	0	B
99	50	3	武藤	4	AL 100%	自家	自家	10	NO	3	調整済	酸フクジン	武藤	3	2	1	0	B
100	20	4	武藤	0.3	AL 95%	自家	自家	10	NO	2	自家	酸フクジン 0.10%	メルク	10	3	1	0	B
101	30	4	色素粉末	4	AL 100%	自家	自家	10	NO	3	自家	酸フクジン	メルク	10	1	1	0	B
102	28	3	武藤	2	AL 100%	武藤	武藤	10	NO	3	自家	酸フクジン 0.13%	メルク	3	3	2	0	A
105	75	3	武藤(前田)	1	AL 100%	自家	自家	10	NO	3	自家	酸フクジン 0.08%	メルク	5	1	1	0	B
107	10	3	武藤	2.5	AL 100%	自家	自家	10	NO	2	自家	酸フクジン 0.13%	クロマ	10	3	1	2	B
109	45	5	武藤	0.3	塩酸AL 0.5%	自家	自家	5	塩酸AL 0.5%	2	自家	酸フクジン+シリウス	メルク/クロマ	10	3	1	1	A
113	10	3	武藤	3	AL 100%	自家	自家	7	塩酸水 0.5%	2	調整済	酸フクジン	武藤	5	2	1	1	B
122	50	4	色素粉末	0.5	AL	自家	自家	5	NO	2	自家	シリウスレット	クロマ	10	3	3	0	A
124	15	4.5	武藤	0.8	AL 100%	自家	自家	10	NO	3	自家	酸フクジン	メルク	5	2	1	0	B
131	300	3	武藤	2.5	AL 100%	自家	自家	10	NO	3	自家	酸フクジン 0.12%	和光	5	2	1	0	B
168			色素粉末	1~12	AL 100%	自家	自家	5	NO	3	自家	酸フクジン 0.2%	メルク	10	2	2	0	A
183	4.5	3	武藤(前田)	1	塩酸AL 0.5%	自家	自家	5	塩酸AL 0.5%	2	自家	酸フクジン 0.15%	和光	15	2	1	1	B

平成12年度精度管理調査実施要綱（病理組織検査）

試料 No. 24

1. 配付試料

- ・ 標本は外科材料の大腸組織
- ・ 20%中性緩衝ホルマリンで一日固定
- ・ パラフィン包埋、薄切4～5 μ m；2枚（未染色）

2. 提出標本について

2枚の内、染色良好な物1枚を提出して下さい。

標本、標本ケースには必ず各自の施設番号、又は施設名を記入、もしくは記入してあることを確認して下さい。

3. 染色方法

Elastica 染色+van Gieson 染色+核染色（EVG）染色

4. 評価ポイント

レゾルシンフクシンによる動脈血管等の弾性繊維の染色性。ワンギーソン液による膠原線維と筋線維、細胞質の染め分け具合。核染色、粘液の共染の程度など。

5. 結果報告

平成12年度精度管理調査報告会、並びに研修会資料をもって報告と致します。

搬送などによる標本の破損、検査等に関して不明な点がありましたら下記までご連絡下さい。

236—0016 横浜市金沢区福浦3—9
横浜市立大学医学部第一病理学 三井 秀昭
TEL：045—787—2583（直通）
FAX：045—789—0588
E-mail：himitsu@med.yokohama-cu.ac.jp

調査報告書（病理組織検査）

施設名：

施設No.:

1. 貴施設では約何枚くらいのEVG染色をしていますか。
約 _____ 枚/日、月、年
2. 薄切片の厚さは何 μm ですか。 _____ μm
3. 染色方法について具体的に下記に記入して下さい。（染色法のコピーの添付可）

操作	試薬	時間	回数	備考
脱パラ	キシロール			
脱パラ	アルコール			
洗浄				

コメント等； _____

施設No.

4. 下記の染色液について試薬、メーカー名、調整方法（濃度等）および留意点を記入して下さい。該当項目があれば丸で囲って下さい。

1) レゾルシン、フクシン液

市販品使用；武藤化学製、その他（ ）
色素粉末使用；和光社、クロマ社、その他（ ）
完全自家調製；

2) ワン、ギーソン液

市販品使用；武藤化学製、その他（ ）
自家調製；
酸フクシン；メルク社、クロマ社、和光社、その他（ ）
シリウス、レッド；クロマ社、その他（ ）
チアジン、レッド；東京化成、その他（ ）

3) 核染色

鉄ヘマトキシリン
2倍カラッチヘマトキシリン

5. 次回の精度管理に関して、要望などありましたらご記入をお願いします。