

9 病理組織学的検査

包埋・薄切，ハマトキシリン・エオジン染色，マッソントリクローム染色，PAM染色の精度管理

1. はじめに

腎臓の組織学的検索法では，ハマトキシリン・エオジン（以下HEと略）染色を基本として，マッソントリクローム（以下マッソンと略）染色，PAM染色，PAS染色などの特殊染色が行われる。また，必要に応じて免疫組織学的検索や電子顕微鏡学的検索も用いられる。これらの染色法は，腎臓における組織学的検索（主として腎糸球体の病的変化など）には，必要不可欠なものである。また，これらの染色で検索を行う場合に用いる薄切片においても，その厚さや，作製方法などにより，染色結果に違いが生じる場合もある。

そこで，今回は，腎臓における病理組織学的検索に通常用いられているHE染色，マッソン染色，PAM染色，および包埋・薄切法について精度管理を実施したので，その方法と成績結果について報告する。

2. 材料および実施方法

材料は，死後2時間の剖検材料を用い，厚さ5mmに切り出し後，ホルマリン液で固定し，容器に密封したものを各施設に送付し，各施設で通常行っている方法で，包埋・薄切，その切片でHE染色，マッソン染色，PAM染色を実施していただいた。また，各々の実施方法を検査報告用紙に記入して頂いた（表1～4）。ブロック作製および各染色法に関するアンケート結果については別紙の図表に示す。

判定方法

今回は，下記の事項を基準に各染色ごとに判定を行った。

- ①腎の全体像として，結合組織の染め分けや共染の有無
- ②遠位・近位尿管およびヘンレの係蹄や集合管などの細胞質の染色態度
- ③核の染色態度（核内構造，染色度合など）

表 5 判定表

NO	総合点	良	可	不可
腎全体染色像	膠原線維 (細網線維)	2	1	0
	弾性線維	2	1	0
	筋線維	1	/	0
	細胞質	1	/	0
	赤血球	2	1	0
	細胞核	2	1	0
	糸球体			
糸球体	基底膜	2	1	0
糸球体	メサンギウム	1	/	0

④赤血球の染色態度

⑤糸球体基底膜の染色態度

⑥メサンギウム基質とメサンギウム細胞の染色態度

⑦上皮細胞と内皮細胞の鑑別

以上を表5の判定基準表を用いて判定し、合計13点満点とした。判定は12～13点を『満足すべき標本 (Aクラス)』, 8～11点を『診断上支障のない標本 (Bクラス)』, 7点以下を『診断に支障をきたす標本 (Cクラス)』とした。また, Aクラスと判定された標本については, ダブルチェックを行い再度確認した。判定結果は表6で, 各施設の成績結果は表7に示す。

3. 講評・結語

今回の精度管理では, 染色法のみでなくパラフィンブロックの作製, 薄切片の作製についても各施設で行っていただいた。各施設のブロックについては, 実際に薄切を行った結果, 良好な状態であると思われた。今回, 実施した染色法は, 腎臓の検索において日常頻繁に用いられているHE染色, マッソン染色, PAM染色を実施した。PAM染色については, 各施設とも, 切片が多少厚めの傾向にあるものの, 染色結果には影響を及ぼす程の切片はなく, 比較的良好であった。今回の参加施設数が7施設で, HE染色については全施設がAクラスと判定された。マッソン染色については1施設がAクラス, 5施設がBクラスと判定され, この中には, アニリン青の共染により, 弾性線維が不明瞭で細胞質も青色に染め出されているといった施設が多かった。PAM染色については, 2施設がAクラス, 3施設がBクラスと判定され, この3施設の中には薄切片が多少厚めのため, 糸球体基底膜がやや不明瞭で, 核や細胞質に銀顆粒の沈着が認められた。しかし, 今回の精度管理では, 3染色法ともにCクラスと判定された施設はなく, 満足すべき結果が得られた。今後とも各施設の尚一層のレベルアップを切望するものである。

表6 染色判定結果

染色法判定	H E 染色	マッソン染色	P A M 染色
A クラス	7施設 (100%)	1施設 (17%)	2施設 (34%)
B クラス	0施設 (0%)	5施設 (83%)	4施設 (66%)
C クラス	0施設 (0%)	0施設 (0%)	0施設 (0%)
合計	7施設 (100%)	6施設 (100%)	6施設 (100%)

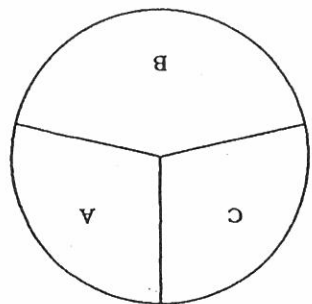
Aクラス：膠原線維，弾性線維，平滑筋線維，赤血球，糸球体基底膜などが明瞭に染色され，満足すべき標本である。

Bクラス：染色の一部に不明瞭さがあり，詳細な検査をする上で問題を呈するが，診断上支障のない標本である。

Cクラス：膠原線維，弾性線維，平滑筋線維，赤血球，糸球体基底膜などの染め分けが不明瞭で，鑑別困難であるため，診断をする上で支障をきたす標本である。

表7 各施設の成績結果

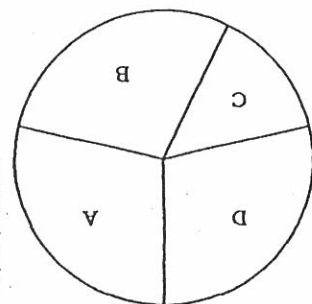
染色法施設NO	H E 染色	マッソン染色	P A M 染色
10	Aクラス		
18	Aクラス	Aクラス	Aクラス
8	Aクラス	Bクラス	Aクラス
4	Aクラス	Bクラス	Bクラス
2	Aクラス	Bクラス	Bクラス
13	Aクラス	Bクラス	Bクラス
19	Aクラス	Bクラス	Bクラス



合計	7
A-2~3	2 (28.6%)
B-3	3 (42.9%)
C-3~4	2 (28.6%)

(単位: μm)

(2) 切片の厚さは何μmか。



合計	7
A-400~900	2 (28.6%)
B-1000~1500	2 (28.6%)
C-2000~3000	1 (14.3%)
D-10000以上	2 (28.6%)

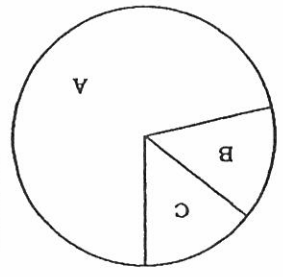
II. H・E染色
(1) 一ヶ月の染色枚数は何枚か。

5枚数	1	14.3%
4枚数	1	14.3%
3枚数	2	28.6%
2枚数	3	42.9%
1枚数	0	0%

(4) ハマトキシリンは何を使用したか。

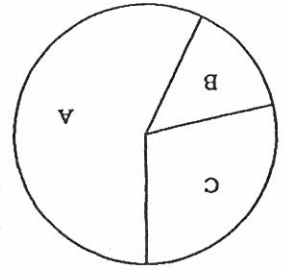
3枚数	1	14.3%
2枚数	2	28.6%
1枚数	3	42.9%
0枚数	1	14.3%

(3) エオジンは何%か。



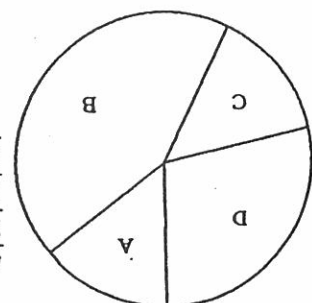
合計	7
A-マルク	5 (71.4%)
B-和光純薬	1 (14.3%)
C-クロマ	1 (14.3%)

エオジン



合計	7
A-マルク	4 (57.1%)
B-和光純薬	1 (14.3%)
C-武蔵化学	2 (28.6%)

(3) HE染色に使用した試薬のメーカーは何か。
ハマトキシリン



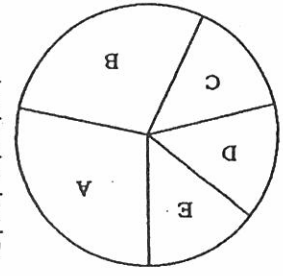
合計	7
A-500~900	1 (14.3%)
B-950~1900	3 (42.9%)
C-2000~3000	1 (14.3%)
D-10000~20000	2 (28.6%)

(単位: 施設数)

I. 包埋・薄切
(1) 一ヶ月の薄切枚数は何枚か。

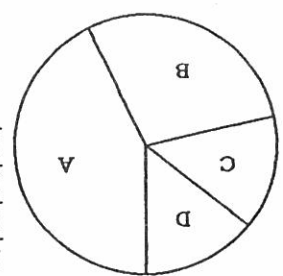
アンケート結果

(2) 包埋に使用した試薬のメーカーは何か。



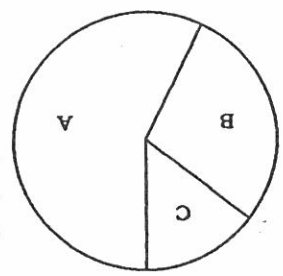
合計	7
A-和光純薬	2 (28.6%)
B-関東化学	2 (28.6%)
C-今泉薬品	1 (14.3%)
D-ヨシダ製薬	1 (14.3%)
E-国産化学	1 (14.3%)

アルコール



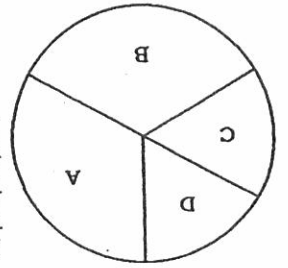
合計	7
A-和光純薬	3 (42.9%)
B-関東化学	2 (28.6%)
C-Fisher+純正化学	1 (14.3%)
D-Fisher+マルク	1 (14.3%)

アルコール



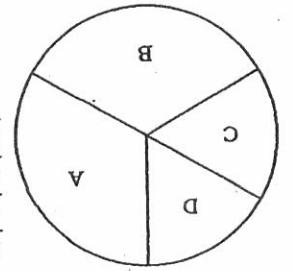
合計	7
A-和光純薬	4 (57.1%)
B-関東化学	2 (28.6%)
C-国産化学	1 (14.3%)

アルコール



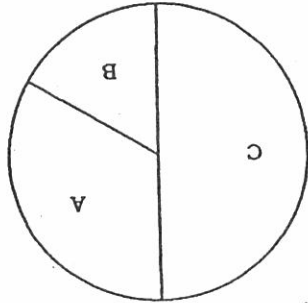
A-マルク	2	(33.3%)
B-和光純薬	2	(33.3%)
C-武蔵化学	1	(16.7%)
D-和光 (ライ卜線)	1	(16.7%)
合計	6	

フニンソ青



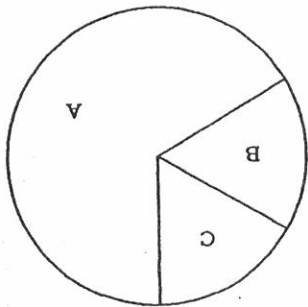
A-マルク	2	(33.3%)
B-和光純薬	2	(33.3%)
C-クローマ	1	(16.7%)
D-関東化学	1	(16.7%)
合計	6	

ネリンソシヨ



A-2	2	(33.3%)
B-2~3	1	(16.7%)
C-3	3	(50.0%)
合計	6	

(2) 切片の厚さは何μmか。



A-0	4	(66.7%)
B-1~3	1	(16.7%)
C-5~10	1	(16.7%)
合計	6	

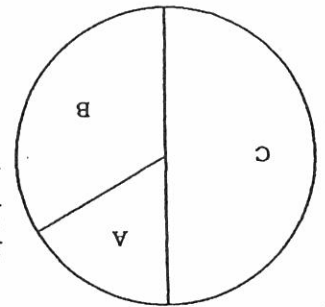
(1) 一ヶ月の染色枚数は何枚か。

染色法	1	1
2	1	1
3	1	1
4	1	1
5	1	1
6	1	1

(3) PAM染色は何法ですか。

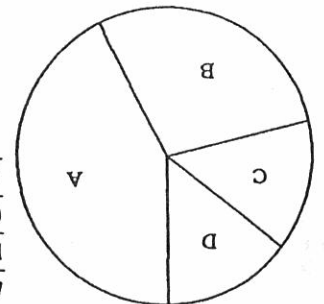
染色法	1	1
2	1	1
3	1	1
4	1	1
5	1	1
6	1	1

(3) マウソソ染色は何法か。



A-2	1	(16.7%)
B-2~3	2	(33.3%)
C-3	3	(50.0%)
合計	6	

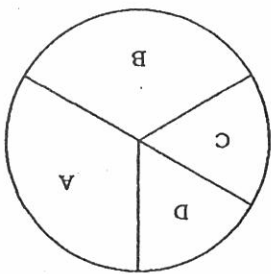
(2) 切片の厚さは何μmか。



A-0~4	3	(42.9%)
B-5~10	2	(28.6%)
C-15~30	1	(14.3%)
D-200~250	1	(14.3%)
合計	7	

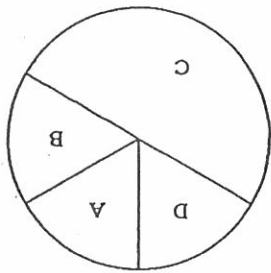
(1) 一ヶ月の染色枚数は何枚か。

(4) マウソソ染色に使用した試薬のメーカーは何か。



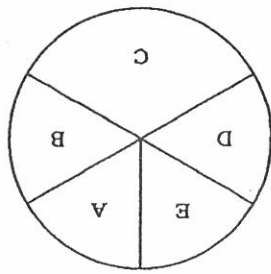
A-マルク	2	(33.3%)
B-和光純薬	2	(33.3%)
C-クローマ	1	(16.7%)
D-武蔵化学	1	(16.7%)
合計	6	

酸性ワクシン



A-東京化成	1	(16.7%)
B-和光純薬	1	(16.7%)
C-クローマ	3	(50.0%)
D-武蔵化学	1	(16.7%)
E-関東化学	1	(16.7%)
合計	6	

フニンソキシソ



A-マルク	1	(16.7%)
B-和光純薬	1	(16.7%)
C-クローマ	2	(33.3%)
D-武蔵化学	1	(16.7%)
E-関東化学	1	(16.7%)
合計	6	

ホソソ液

平成4年度精度管理調査票

平成4年10月6日配布

施設番号

施設名

検査責任者名

10月12日17時(必着)までに返送

神奈川県衛生部

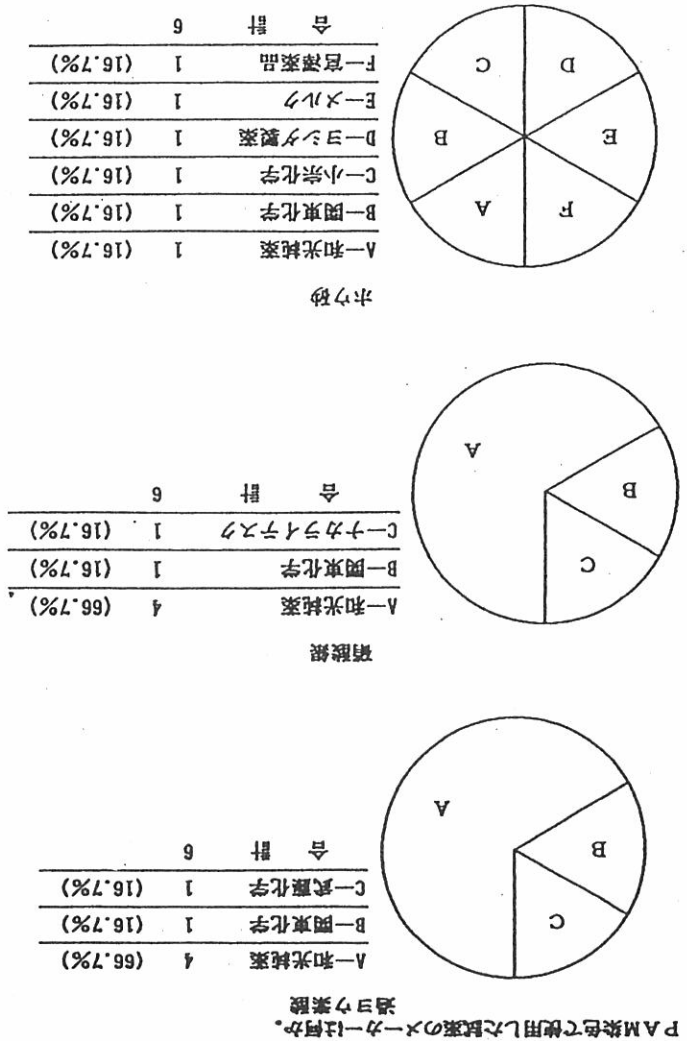
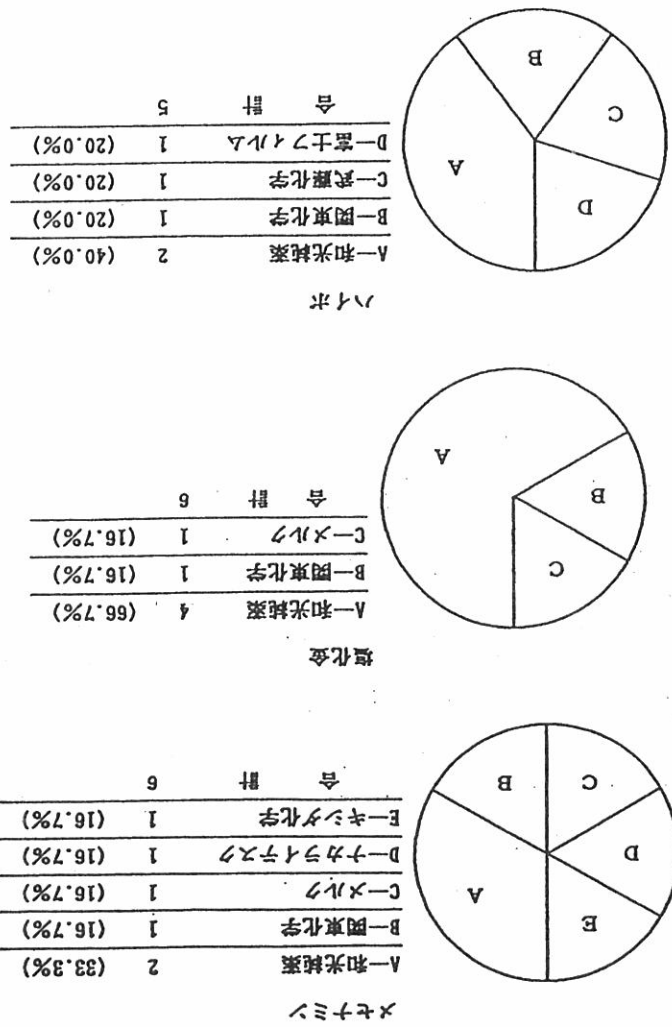


表2

検査実施日 月 日

検査番号	
------	--

施設名 _____ 報告者 _____

H E (ハマトキシリン・エオジン) 染色法

- (1) 貴施設では1ヶ月何枚位H E染色をしますか。 _____ 枚
- (2) 薄切切片の厚さは何μmですか。 _____ μm
- (3) H E染色に使用した試薬のメーカーを記入して下さい。

エオジン _____ ハマトキシリン _____
 (4) エオジンは何%ですか。(イ)アルコール溶性 % (ロ)水溶性 %

- (5) ハマトキシリンは何を使用しましたか。 _____
- (6) 今回貴施設で行ったH E染色を下記の空欄に具体的に記入して下さい。

- (ア) 脱バグイン 操作 _____
- (イ) 水洗 _____
- (ウ) ハマトキシリン _____
- (エ) 水洗 _____
- (オ) _____
- (カ) _____
- (キ) エオジン _____
- (ク) _____
- (ケ) 脱水 _____
- (コ) 透徹・封入 _____

- (ア) 脱バグイン _____
- (イ) 水洗 _____
- (ウ) ハマトキシリン _____
- (エ) 水洗 _____
- (オ) _____
- (カ) _____
- (キ) エオジン _____
- (ク) _____
- (ケ) 脱水 _____
- (コ) 透徹・封入 _____

(5) 今回貴施設で行った包埋法を下記の空欄に具体的に記入して下さい。

施設名 _____ 報告者 _____

検査番号 _____

検査実施日 月 日

病理学的検査 (包埋, 薄切)

- 今回の病理組織検査精度管理は、貴施設が行っている包埋・薄切、各種染色を施し、診断に耐えるものかどうかを見ることが重要です。
- 今回の臓器は、腎臓です。
- 今回、使用した組織(ブロック)は必ず御返知下さい。
- 染色後の標本は破損のない様に注意して下さい。
- 今回、貴施設で行った包埋、薄切を空欄に具体的に記入して下さい。

記入例 1) 脱水操作 71-1-N 70%. 80%. 90%. 100% 各々1時間
 記入例 2) 脱アルコール キシロール I・II・III 各々1時間
 記入例 3) バグインの浸透 バグイン I・II・III・IV 各々1時間

(1) 貴施設では1ヶ月何枚位包埋・薄切をしますか。 _____ 枚

(2) 薄切切片の厚さは何μmですか。 _____ μm

(3) 自動包埋装置の機種名は何ですか。 _____

(4) 包埋法に使用した試薬のメーカーを記入して下さい。
 アルコール _____
 キシロール _____
 バグイン _____
 その他 _____

表3

検査番号	
------	--

検査実施日 月 日

施設名 _____ 報告者 _____

M a s s o n 染色

- (1) 貴施設では1カ月に何枚位Masson染色をしますか。 _____ 枚
- (2) 薄切切片の厚さは何 μm ですか。 _____ μm
- (3) Masson染色法には、いくつかの方法がありますが貴施設で行っている方法は、
_____ 法
- (4) Masson染色法に使用する試薬のメーカー名を記入して下さい。
 酸フクシン _____ オレンジG _____
 アゾフロキシシン _____ ボンソー _____
 アニリン青 _____ その他 _____
 ライト緑 _____

(5) 今回貴施設で行ったMasson染色法を下記の空欄に具体的に記入して下さい。

- (ア) 脱パラフィン 操作 _____
- (イ) 水洗 _____
- (ウ) 媒染剤 _____
- (エ) 核染色 _____
- (オ) _____
- (カ) _____
- (キ) _____
- (ク) _____
- (ケ) _____
- (コ) _____
- (サ) _____
- (シ) _____
- (ス) _____
- (セ) 脱水 _____
- (ソ) 透徹・封入 _____

表4

検査番号	
------	--

検査実施日 月 日

施設名 _____ 報告者 _____

P A M 染色法

- (1) 貴施設では1ヶ月何枚位PAM染色をしますか。 _____ 枚
- (2) 薄切切片の厚さは何 μm ですか。 _____ μm
- (3) PAM染色には、いくつかの染色法がありますが貴施設で行っている方
- (4) PAM染色に使用した試薬のメーカー名を記入して下さい。
 過ヨウ素酸 _____ 硝酸銀 _____
 ホウ砂 _____ メセナミン _____
 塩化金 _____ ハイポ _____
 ハマトキシリン _____ エオジン _____
 その他 _____

(5) 今回、貴施設で行ったPAM染色を下記の空欄に具体的に記入して下さい。

- (ア) 脱パラフィン 操作 _____
- (イ) 水洗 _____
- (ウ) 酸化 _____
- (エ) _____
- (オ) 水洗 _____
- (カ) _____
- (キ) _____
- (ク) _____
- (ケ) _____
- (コ) 鍍銀 _____ °C _____ 分
- (サ) _____
- (シ) _____
- (ス) 後染色 _____
- (セ) 脱水 _____
- (ソ) 透徹・封入 _____

(6) 鍍銀液の作り方を具体的に記入して下さい。

- _____
- _____
- _____