

病理検査

1. はじめに

病理組織学的検査法は、従来へマトキシリン・エオジン（以下H Eと略記）染色をはじめとする光学顕微鏡学的方法を中心に、免疫組織学的検査、電子顕微鏡学的検査、さらに現在はDNA定量、癌遺伝子などの検索が盛んにおこなわれている。しかし、従来からの光学顕微鏡学的検査は、病理組織診断に欠かすことの出来ない重要な検査方法で、特に基本染色であるH E染色は、この染色法を抜きにして病理診断をすることはありえないといっても過言ではない。H E染色から得た情報を基に、その疾患に必要な特殊染色を行っていくことが確定診断を得るために重要である。

今回の精度管理は、昨年同様に病理検査の基本であるH E染色と特殊染色として、エラスチカ・ワングーソン（以下E V Gと略記）染色を取り上げた。E V G染色法は、線維性結合織のなかの弾性線維と膠原線維を染め分け、かつ筋線維などの鑑別も可能とする染色法である。また、血管系腫瘍や、血管と間質成分の關係に応じて病理組織診断に欠かすことのできない特殊染色法である。平成5年度の精度管理は、H E染色とE V G染色について実施したので、ここに報告する。

2. 材料および実施方法

材料は、肺の手術摘出材料（肺癌）を直ちに20%緩衝ホルマリンで12時間固定の後、厚さ5mmに切り出し4時間再固定をしたパラフィン包埋標本をもちいた。切片の厚さにはバラツキが生じるので、精度管理委員が4~5µmに薄切し、63℃のふ卵器で1晩乾燥した標本を、20枚に1枚サンプリングし、染色をおこない適切な標本であることを確認した。また、各施設の染色条件によっても差が生じるので、現在行っている染色方法と、その染色に関するアンケートを記入していただくよう調査用紙と未染標本（3枚）を配布した。各染色法に関するアンケート結果は、別紙に記す。

実施対象は、登録衛生検査所7施設と一般参加病院の35施設についておこなった。

登録衛生検査所	参加施設数	H E	E V G	アンケート回答数
国公立病院	7	7	6	7
私立大学、付属病院	12	12	11	12
一般総合病院	6	6	6	6
研究機関、診療所	15	14	14	15
計	42	41	38	42

3. 判定方法

下記の項目を基準に判定を行った。

- ① H E染色
- 1) 標本全体の染色像（肉眼的、顕微鏡による弱拡大の染色態度）

- 2) 上皮系成分の染色態度（気管支円柱上皮、肺胞上皮など）
- 3) 間葉系成分の染色態度（間質成分、軟骨組織など）
- 4) 赤血球の染色態度

判定基準票は表1のごとくである。

以上、14点満点とし、14~11点をA（満足すべき標本）、10~7点をB（診断に支障のない標本）、6点以下をC（診断に支障はないが、全体の染色性に劣る標本）とした。

② E V G染色

- 1) 標本全体の染色像（染色ムラ、切片の保存状態）
- 2) 弾性線維の染色態度（血管、肺胞中隔）
- 3) 膠原線維、筋線維の染色態度
- 4) 核染、赤血球の染色態度

判定基準票は表2のごとくである。

以上、14点満点とし、14~12点をA（満足すべき標本）、11~7点をB（診断に支障のない標本）、6点以下をC（診断に支障をきたす標本）とした。

4. 判定結果

各染色の判定結果は下記の通りである。また、染色性の差異は図1、2に示した。各染色共、ダブルチェックを行い再度確認し、病理医の指導を受けた。

1) H E染色の判定結果

登録衛生検査所	Aクラス	Bクラス	Cクラス	計
病院	4	3	0	7
病院	28	4	2	34

Aクラス：上皮性組織や間質性組織、軟骨組織などの核、細胞質、基質が適切に染め分けられている。

Bクラス：染色の一部に不明瞭さがあるが、診断には差し支えない標本である。

Cクラス：診断には差し支えないが、標本全体に、核や細胞質、間質成分などの染め分けが不明瞭である。

2) E V G染色の判定結果

登録衛生検査所	Aクラス	Bクラス	Cクラス	計
病院	4	2	0	6
病院	18	14	0	32

Aクラス：血管、肺胞中隔の細かい弾性線維が染め出され、染色ムラや共染のない満足すべき標本である。

Bクラス：染色の一部に細かい弾性線維に不明瞭さに欠くが、診断には支障のない標本である。

Cクラス：本来の目的である弾性線維の染色性に欠き、背景の染色ムラや共染が認められ正確な診断に支障をきたす標本である。

5. 総評およびまとめ

- 1) 本年の精度管理は、登録衛生検査所（7施設）、一般参加病院（34施設）において、H E染色、E V G染色を実施し、診断に支障をきたす標本と判定された施設はなかった。
 - 2) H E染色では、細胞核、細胞質の染色については若干の濃淡はあるものの、ほぼ全て満足する結果が得られたが、後染色であるエオジンの染色性、特に結合組織、平滑筋、膠原線維の染め分けが不鮮明な2施設（Cクラス）があり、標準化(standardization)を進めるためには今後の課題と思われる。
 - 3) E V G染色については、弾性線維を中心に、多少の染色性の良可はあるが、全施設において、満足すべき結果が得られた。
 - 4) E V G染色において、登録衛生検査所2施設、一般病院14施設では、後染色である、酸性フクシン、ピクリン酸による膠原線維や平滑筋線維の染色性に鮮明さを欠きBクラス（診断上支障のない標本）と判定されたが、背景の染色からの情報により、診断上重要であることから、今後の改善を期待するものである。
- 以上、今回の精度管理の結果について述べたが、各施設間の染色性の標準化を図り、より一層のレベル向上を切望するものである。

表 1 H E染色の判定票

施設名 No.	判定		
	A	B	C
全体	良 ₂	可 ₁	不可 ₀
結合組織	染色むら		
	共染の有無		
	切片の保持		
細胞	弾性繊維		
	膠原繊維		
	筋繊維		
核			
細胞質 赤血球			

14~12 A：満足すべき標本
 11~7 B：診断に支障のない標本
 6~0 C：標本全体の染色性に劣る

総合

表 2 E V G染色の判定票

施設名 No.	判定		
	A	B	C
全体	良 ₂	可 ₁	不可 ₀
結合組織	染色むら		
	共染の有無		
	切片の保持		
細胞	弾性繊維		
	膠原繊維		
	筋繊維		
核			
細胞質 赤血球			

14~12 A：満足すべき標本
 11~7 B：診断に支障のない標本
 6~0 C：診断上支障をきたす標本

総合

付) 1. 標本作成に関するアンケート結果

1) 固定液	施設数	複数回答あり
10%ホルマリン	15	
20%ホルマリン	11	
緩衝 10%ホルマリン	11	
緩衝 20%ホルマリン	8	
その他	3	

2) 固定にさいし、大型材料に割を入れますか

施設数	
はい	39
いいえ	2*
無回答	1

*は生検材料が主体

3) 問2に『はい』と回答した施設は誰がおこないますか。(複数回答あり)

登録衛生検査所	病院
病理医	8
臨床医	4
技師	2
病理医、臨床医	6
病理医、技師	2
臨床医、技師	5
病理医、臨床医、技師	6
無回答	1

4) 切り出しは誰がおこないますか。

登録衛生検査所	病院
病理医	16
臨床医	0
技師	1
病理医か臨床医*	0
病理医か技師*	11
臨床医か技師*	0
病理医、臨床医、技師*	5

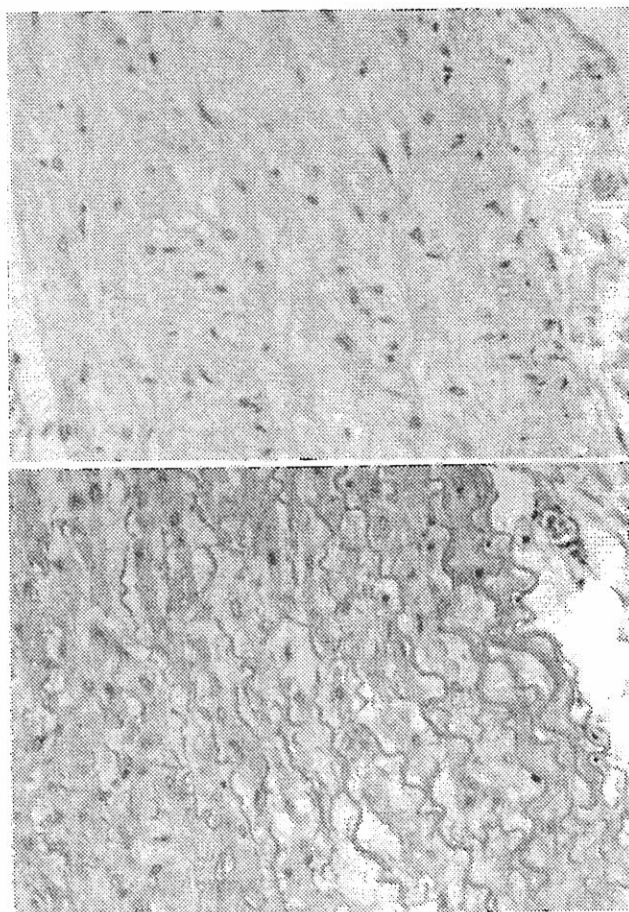


図1 HE染色

(左) 弾性線維、筋線維の染め分けが明瞭である。：Aクラス
 (右) 診断に支障はないが膠原線維、筋線維の染色性に劣り、改善すべき点のある標本：Cクラス

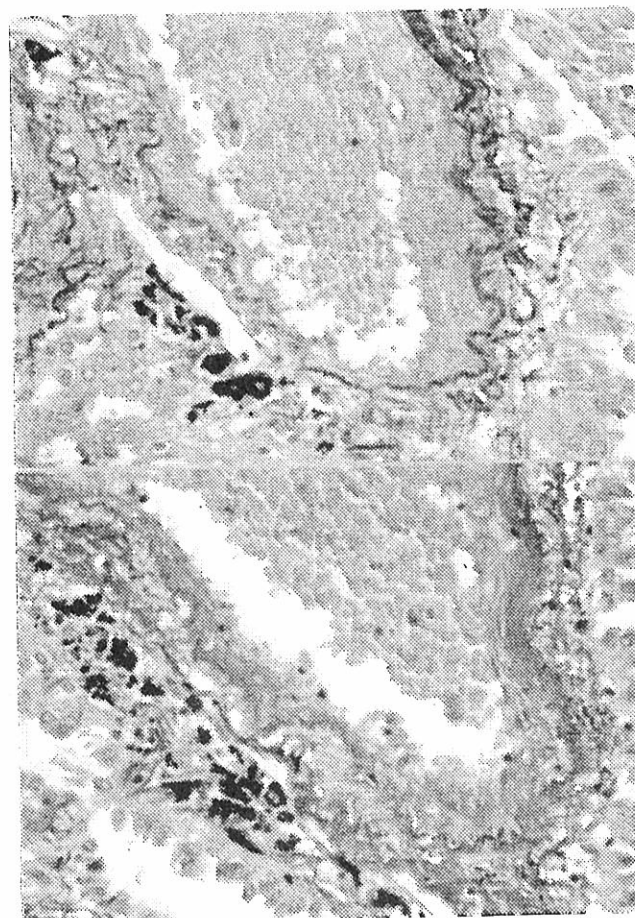


図2 EVG染色

(左) 弾性線維、筋線維、膠原線維の染め分けが明瞭である。：Aクラス
 (右) 弾性線維の染色は明瞭であるが、膠原線維の染色性に劣る。：Bクラス

試料について

- 試料1 尿検査用試料で添付の溶解液10mlで溶解
- 試料2 尿検査用試料で精製水10mlで溶解
- 試料3 生化学的検査用試料で精製水 3mlで溶解
- 試料4 生化学的検査用試料で精製水 3mlで溶解
- 試料5 血液学的検査用で無調整
- 試料6 血液学的検査用で無調整

注. 試料1～4は、精度管理調査時と同一試料

試料5. 6は、立入の度に製造番号が異なるため解析より除外

尿検査について

おおむね良好であった。ただし、施設No.5の比重は試験紙法による測定であるが、試料1の高値域が低値に測定される傾向にあり判定基準の見直しが必要と思われる。また、試料2のウロビリノーゲンが(-)の報告であるが、正常という意味で(-)の表現を取られているのか、もしくは(±)であるべきところを誤認されたのか確認されたい。施設No.24の試料2の尿糖は調査時は(+)で立ち入り時が(±)と報告されているが、判定時間、判定基準の確認が必要である。施設No.25の試料2の蛋白、尿糖が調査時(-)で立ち入り時(±)の報告であったが、測定者の違いによる事も考えられるため判定基準の確認が必要と思われる。また、施設No.26,16で試料1の蛋白が高めに測定される傾向があるが判定基準の確認していただきたい。

生化学的検査について

調査時の報告値と同様な報告であり、良好であった。ただし、施設No.15に於いて、一覧表の中に調査時の報告値を記載しておいたが、特に酵素項目で両者に著しい差が認められた。どのような事柄に起因しているのか明かな解析ができないうが、日常の精度管理に於ける管理血清でもこの様な現象が生じていないか確認して可能な限り原因を追及していただきたい。

*は検体に応じておこなう施設

2. HE染色に関するアンケート結果

1)貴施設では1日約何枚のHE染色をしますか。

1日/枚数	登録衛生検査所	病院	施設数
0～50	2	14	
51～100	2	11	
101～200	1	5	
201～500	0	3	
501～1000	1	0	
1000以上	1	0	
無回答	0	1	

2)薄切の厚さ。

施設数	施設数
2～4 μm	41
5～7 μm	1

3. EVG染色についてのアンケート結果

1)染色に際しコントロール標本を置きますか。

施設数	施設数
はい	10
いいえ	25
無回答	3

2)問1に『はい』と回答した施設はどのような標本(臓器)を使用していますか。

複数回答あり () 施設数
肺(8) 血管(2) 消化管(3) 心臓(2) 肝(1) 腎(1)

設問 8 2本の試料のA B O式血液型とR h o式血液型の反応態度と判定結果を記入してください。

A B O 式 血 液 型					
試料 2 0	オ モ テ 試 験		ウ ラ 試 験		最 終 判 定
	抗 A	抗 B	A 血 球	B 血 球	
試料 2 1					

R h o 式 血 液 型				
試料 2 0	抗 D 血清	D 試 験	対 照	最 終 判 定
試料 2 1				

設問 9 不規則抗体のスクリーニング検査の方法を具体的（例：生食法とプロメリン法）に記入してください。

設問 10 2本の試料の不規則抗体の有無と、同定できた場合はその抗体名を記入してください。

試料 2 0 無・有 _____
 抗体名
 試料 2 1 無・有 _____

↑ 以上です。何かご意見があれば、下にお書きください。

2 2

93年度 病理検査業務における精度管理の実施要項

本年度の病理検査の精度管理は下記の通り実施致します。

1 検体は、肺（癌症例）で、手術摘出材料。摘出後ただちに20%緩衝ホルマリン（日本ターナー社）で固定したパラフィン包埋標本を薄切（4~5μm）後、切片を63℃のふ卵器にて一晩乾燥した未染色標本です。

2 検査法

- ①ヘマトキシリン・エオジン染色（HE染色）
- ②エラスチカ・ワングーソン染色（EVG染色）

上記の標本を染色後、2枚の標本と別紙のアンケート用紙を返送して下さい。

3 標本到着後、一週間以内に返送して下さい。

郵送先 〒232 横浜南区真金町2-20-5 307号
 社団法人 神奈川県臨床衛生検査技師会宛

4 搬送、郵送などによる標本の破損や切片へのアーチファクトなど、不明な点がありましたら下記まで御連絡をお願いします。

昭和大学藤が丘病院 病院病理科

中川信廣

TEL 045-974-6531（直通）

以上、上記の通り御協力をお願い申し上げます。

病理標本作成におけるアンケート用紙

固定、切り出し、包埋について（パラフィン標本）(免疫染色を除く)

1. ルーチン検査に使用している固定液（複数回答可）（使用品名）
生検材料・①10%ホルマリン ②20%ホルマリン ③緩衝10%ホルマリン
④緩衝20%ホルマリン
- ⑤その他、特に臓器により固定液を変えている施設は具体的に記入して下さい。

2. 固定にさいし、大型材料に割を入れますか。（はい）（いいえ）
3. 『はい』と回答の施設は誰がおこないますか。（複数回答可） 病理医 臨床医 技師
4. 切り出しは誰がおこないますか。 ①病理医 ②臨床医 ③技師 ④臓器により異なる
④の回答施設は具体的に記入して下さい。

5. 包埋について具体的に記入して下さい。

- 1) 包埋は自動包埋装置を使用していますか。（はい）（いいえ）
『はい』と回答した施設は機種名を記入してください。（ ）
- 2) 操作手技（メニュー）を具体的に記入してください。
水洗（固定液の除去）

脱脂、脱水

置換

パラフィン浸透（使用品名）

上記以外の方法でおこなっている施設は具体的に記入して下さい。

ハマトキシリン・エオジン（HE）染色

1. 貴施設では1日約何枚位HE染色をしますか。 _____ 枚
2. 薄切切片の厚さは何 μm ですか。（今回は4-5 μm ） _____ μm
3. 薄切後の固着は _____ $^{\circ}\text{C}$ _____ 時間、ふ卵器 _____ その他（ _____ ）
4. 染色方法について具体的に記入して下さい。

1) 脱パラフィン操作

- 2) 水洗
- 3) ハマトキシリン液（処方並びに染色時間）

- 4) 水洗、
- 5) 分別 _____ % _____ 液 _____ 分
- 6) 水洗
- 7) 色出し _____ 液 _____ 分
- 8) 水洗
- 9) エオジン（処方並びに染色時間）

- 10) 脱水
- 11) 透徹
- 12) 封入（自動封入装置や使用封入剤など）

エラスカワソーン (E V G) 染色について

1. 染色に際しコントロール標本を置きますか。 (はい) (いいえ)
2. 『はい』と回答した施設はどのような標本 (臓器) を使用していますか。

3. 染色方法について具体的に記入して下さい。

1) 脱パラフィン

2) 脱キシロール

3) アルコール浸透 _____ % アルコール

4) レゾルシンフクシン (処方と染色時間)

5) 分別

6) 水洗

7) 核染 (使用染色液並びに染色時間)

8) 水洗

9) ソーン液 (処方並びに染色時間)

10) 脱水

11) 透徹

12) 封入

4. 上記以外の染色方法をおこなっている施設は具体的に記入して下さい。

御協力ありがとうございました。