

病理検査

病理検査部門の精度管理は、県内検査施設の染色技術の標準化及び向上を目的として実施している。2023年度（以下、今年度）は、HE染色には35施設、EvG染色には30施設が参加して行われた。精度管理調査用標本は今年度も信州大学医学部倫理委員会で使用許可を得たヒトの臓器を使用した。

I. HE染色における精度管理

【はじめに】

HE染色は、病理組織検査の最も基本となる染色であり、その染色標本から多くの病理組織学的な情報を得ることができる。しかし、組織の固定状態や染色環境の変化により、なかなか安定した結果が得られないのも事実である。日常業務で必要不可欠な染色であるため、今年度も精度管理の対象とした。

【材料・方法】

1. 材料及び実施要項

10%中性緩衝ホルマリンで48時間固定した胃癌の手術材料を型どおりにパラフィン包埋し、約3μmに薄切した未染色標本を2枚ずつ参加施設に配布した。

各施設にて染色後、いずれか良く染まった標本に丸印をつけてもらい、アンケート（染色方法、試薬の調合方法や自己評価などの調査目的）と共に2枚とも回収した。

評価区分は昨年度に引き続き、JAMTQCによる4段階評価で行った。

2. 判定方法

病理検査研究班役員9名（内、認定病理検査技師5名）および信州大学医学部保健学科太田浩良先生（信州大学医学部保健学科教授・病理医）に依頼し、判定基準に従い評価した。太田先生には

実際に診断する立場で評価、検閲していただいた。

1) 判定ポイント

標本を弱拡大で鏡検して、核・細胞質が明瞭に染色され、組織構築に応じて細胞質・間質などが区別されているかどうか、腫瘍細胞が見やすいかを評価した。強拡大では、共染の有無、細胞質の染色性の差異、炎症細胞や粘膜のリンパ小節の瀘胞構造が観察しやすいか、などを判定した。また封入状態として、気泡の混入、カバーガラスのずれ、封入剤のはみ出し等を評価した。

2) 判定基準（評価点数）

1. ヘマトキシリンの染色態度	
1) 核の色調及び濃淡	6点
2) ヘマトキシリン共染の有無	6点
2. エオジンの染色態度	
1) 細胞質の色調	6点
2) 間質の色調	6点
3) エオジンのかぶりの有無	6点
3. 標本全体の染色態度	
バランス（赤・青）	15点
4. 封入状態	5点
減点方式で評価点を算出	合計50点満点

3) 評価区分

評価A : 50～46点
色調のバランスが良く、全体像および組織内の構造が明瞭に染色され診断に適した標本
評価B : 45～41点
色調のバランスがやや悪く、染色の一部に不明瞭さがあるものの、検査をする上で差し支えない標本
評価C : 40～31点
色調のバランスが悪く、染色に不明瞭さがあり、詳細な検査をする上で問題を呈する標本
評価D : 30点以下
目的とする組織構築等が不明瞭（鑑別困難）であり、診断に用いるには支障をきたす標本

【結果】

1. 成績

今年度の判定結果は、以下のとおりである。

(表 1) 評価区分と施設数

評価	A		B	C	D	計
	点数	50	49-46	45-41	40-31	
施設数	12	18	5	0	0	35
(%)	(34.3)	(51.4)	(14.3)	(0)	(0)	

(表 2) 減点項目の割合

項目	減点施設数	(%)
1. ヘマトキシリンの染色態度		
1) 核の色調及び濃淡	4	11.4
2) ヘマトキシリン共染の有無	5	14.3
2. エオジンの染色態度		
1) 細胞質の色調	4	11.4
2) 間質の色調	7	20.0
3) エオジンのかぶりの有無	15	42.9
3. 標本全体の染色態度		
バランス(赤・青)	19	54.3
4. 封入状態	0	0

評価Aであった施設は 30 施設 (85.7%) であり評価Bとなった施設は 5 施設 (14.3%) であった。評価Aの施設において、50 点満点の施設が 12 施設 (34.3%)、49~48 点の施設が 13 施設 (37.1%)、47~46 点の施設が 5 施設 (14.3%) であった (表 1)。

平均点は 48.0 点であり、昨年度の 48.2 点、一昨年の 47.9 点とほぼ同様の結果であった。

減点項目の内容としてはヘマトキシリンにより減点された施設は 8 施設 (22.9%) であり、核の色調では 4 施設、共染では 5 施設が減点された (両方で減点された施設を含む)。エオジンで減点された施設は 21 施設 (60%) であり、細胞質の色調が 4 施設、間質の色調が 7 施設、エオジンのかぶりが 15 施設となった (重複して減点された施設を含む)。標本全体のバランスでの減点は 19 施設 (54.3%) であった。封入での減点は見られなかった (表 2)。

2. アンケート調査結果

今回の HE 染色では 2 施設 (5.7%) がルーチン業務と精度管理でプロトコールを別にして染色を行っていた。理由としては両施設ともルーチン業務のプロトコールではヘマトキシリン、エオジンのいずれかが濃く、コントラストが不良になってしまうとの回答であった。

各施設の染色液の使用内容を見るとヘマトキシリン、エオジン共に自家調整を行っている施設は 23 施設 (65.7%)、ヘマトキシリンのみ自家調整という施設は 3 施設 (8.6%)、エオジンのみ自家調整の施設は 1 施設 (2.8%) であった。共に市販品という施設は 8 施設 (22.9%) であった。

ヘマトキシリンを自家調整している 26 施設のうち 17 施設は進行性のマイヤーのヘマトキシリンを使用しており、ヘマトキシリンの量 (g/1000mL) は、多い順に 3g (1 施設)、2.5g (1 施設)、2g (3 施設)、1.5g (5 施設)、1.3g (1 施設)、1g (6 施設) であった。退行性のカラッチのヘマトキシリンは 9 施設 (25.7%) で使用されており、そのうち 8 施設が 2 倍カラッチを使用していた。市販品を使用している施設はヘマトキシリン 3G (サクラファイナテックジャパン) が 6 施設、カラッチヘマトキシリン (武藤化学) が 2 施設、マイヤーヘマトキシリン (サクラファイナテックジャパン) が 1 施設であった。

分別を行っている施設は 15 施設あり退行性ヘマトキシリンを使用している 9 施設に加えて、進行性のヘマトキシリンを使用している 6 施設で行われており、その内訳はヘマトキシリン 3G が 4 施設、自家調整が 2 施設 (ヘマトキシリン量 2.5g、2g) であった。分別液の塩酸水アルコール、塩酸水がそれぞれ 6 施設であり、酢酸 (酢酸水) が 3 施設であった。組成は 0.25% 塩酸水が 3 施設で最多ではあったが、塩酸濃度は 0.1~1%、アルコール濃度は 70~100%、酢酸は 1~2% と各施設で多様であった。

エオジンを自家調整している施設は 24 施設 (68.6%) であり、エオジンの粉末は富士フィルム和光を使用しているのが 12 施設、次点でメル

クを使用している8施設であった。市販品を使用している施設は11施設(31.4%)であり、サクラファインテックジャパンのエオジンを使用している施設が7施設、次点で武藤化学のピュアエオジンを使用している施設が3施設であった。エオジン後の水洗の有無は水洗ありが32施設(91.4%)であり大半の施設が行っていた。

また今回のアンケートは例年の内容に加えてルーチン業務に関するアンケートも行った。内容として、1日の平均染色枚数、各組織における薄切時の切片厚、染色液の交換頻度である。

1日の平均染色枚数は1~30枚が一番多く16施設、次点で31~60枚が9施設、61~90枚が6施設と続く結果となった。

切片の厚さに関しては多様な回答結果となったため、切片厚に幅を持たせて集計を行った(表3)。胃、肺、生検についてはいずれの施設も2.1~3.0 μm の厚さで薄切している施設が多かった。一方で肝臓やリンパ節は胃、肺、生検よりも薄く1.1~2.0 μm で薄切している施設が多い傾向が見られた。

(表3) 各組織と薄切時の切片の厚さ

厚さ (μm)	施設数				
	胃	肺	肝臓	リンパ節	生検
1.0以下	0	0	0	1	1
1.1~2.0	7	6	8	12	6
2.1~3.0	23	20	20	20	25
3.1~4.0	4	3	4	2	3
薄切なし	1	6	3	0	0

各施設の染色液の交換の指標として日数を指標にしている施設は33施設と最多であり、そのうち13施設は日数のみを指標としていた。染色枚数を指標としている施設は10施設であり、染色枚数のみを指標としているのは、そのうちの2施設であった。染色態度を交換の指標としている施設は17施設見られたが、染色態度のみで交換している施設はなかった。また日数で交換している施設のうち3施設はヘマトキシリンとエオジン

を別々に交換していた。交換する日数としては、1週間以内が10施設、2週間が11施設、3週間~1ヶ月が7施設、2~3ヶ月が2施設となった。各施設の1日の平均染色枚数と交換頻度の間には一定の傾向は見られなかった。

(表4) 各施設の染色液交換の指標

	施設数
日数のみ	13
日数および染色枚数	3
日数および染色態度	10
日数、染色枚数および染色態度	7
染色枚数のみ	2

【考察】

1. 概要

本年度の判定と昨年度を比較すると、50点満点(評価A)の施設は1施設増加したものの、49~46点(評価A)の施設が24施設から18施設と6施設減少し、41~45点(評価B)が1施設から5施設と増加した。減点の傾向としては、昨年度、多くの施設で見られたヘマトキシリンの共染での減点が減少したが、エオジンのかぶりやそれに伴う標本全体のバランスでの減点の増加が目立った。以下は各減点項目に関してアンケート内容や該当施設のプロトコールを踏まえて考察した。

2. ヘマトキシリン

核の色調で減点された施設は、濃い2施設と薄い2施設であった。濃いと判定された1施設に関しては、アンケート結果からルーチン業務において薄い切片を使用して長時間染色していることが確認できた。そのため、今回使用した標本の厚さにて同一の染色時間で染色した結果ヘマトキシリンが濃い染色性になってしまったと考える。薄いと判定された2施設に関して、いずれも2倍カラッチのヘマトキシリンを使用していた。自家調整、市販品含め退行性のヘマトキシリンを使用している施設は11施設(31.4%)であったが、いずれもヘマトキシリン濃度、染色時間、分別液

や分別時間が異なるため、原因を断定するのは困難であった。

共染を起こしている施設は5施設見られ、これらの施設間では一定の傾向は見られなかったが、2施設に関しては共染を起こしていない施設との比較にて考察を行った。1つ目はヘマトキシリン3Gを使用している施設で、染色時間が長く、分別を行っていない事が原因であると思われる施設である。ヘマトキシリン3Gは進行性のヘマトキシリンではあるが、使用している6施設のうち、4施設は分別を行っていた。分別を行わない2施設においても、共染を起こしていない施設は1分ではあるが染色時間が短かった。もう1施設に関しては、退行性のヘマトキシリンを使用しているが、分別を行っていないというアンケート回答であった。これらの結果より染色時間の短縮や分別により一部の施設では共染が抑えられる可能性があると考えられる。

3. エオジン

エオジンはアルコール・エオジンや水溶性エオジンなど染色液の種類や濃度、染色時間、水洗の有無など様々な要因で染色性が変化するため一概に原因を断定することはできないが、良好な染色結果(50点満点)の施設と比較するとある程度の傾向があった。

エオジンのかぶりがあると判定された15施設と50点の12施設を比較すると、かぶりありの施設の平均染色時間は5分52秒に対して50点満点の施設では4分19秒と1分半程度、短い傾向が見られた。

間質の色調にて減点された7施設ではエオジン染色後の水洗を行っていない施設が3施設みられ、50点満点の12施設ではいずれも水洗を行っていることから、水洗によるエオジンの分別が間質の染色性の良悪に関係していると考えられる。

細胞質の色調にて減点された施設は4施設に関しては染色時間が長い施設や水洗を行っていない施設、エオジン液のアルコール濃度が低い施設など多様であったため、原因を推定することは困

難であった。

4. アンケート結果

今回、アンケート結果より染色液の種類や染色方法などの観点から比較を行った。

1) 自家調整 vs 市販品

ヘマトキシリン、エオジンの両方を自家調整している23施設と両方ともに市販品を使用している8施設の平均点を比較した。結果は両方ともに自家調整の施設は48.0点に対して両方ともに市販品は48.1点であり、大差はなかった。またヘマトキシリン、エオジンで減点された施設に関して自家調整、市販品で分け、それらを使用している施設数の割合を算出した。ヘマトキシリンに関して、自家調整は15.4%(減点4施設/全26施設)であり、市販品では44.4%(減点4施設/全9施設)であった。エオジンにおいては、自家調整が66.7%(減点16施設/全24施設)であり、市販品は45.5%(減点5施設/全11施設)となった。ヘマトキシリンでは市販品を使用している施設の方が減点の多い結果となった。市販品のヘマトキシリンに関して、データシートを確認したが、自家調整と大きく変わったものは入っておらず、染色時間や分別工程に著しい差も見られなかった。一方でエオジンに関しては自家調整を行っている施設の方が減点の多い結果であった。自家調整、市販品それぞれの平均染色時間は自家調整が5分11秒に対して市販品が3分39秒であった。自家調整を使用している施設は50点満点の施設の平均染色より長い傾向があるため、エオジンで減点された自家調整の染色液を使用している施設は、染色時間を短くすることを検討してもよいかもしれない。

2) 自動染色 vs 用手法

アンケートにて自動染色機を使用した26施設と用手法を行った9施設にて平均点と標準偏差の比較を行った。結果、自動染色機は平均点48.2点、標準偏差1.6に対して、手染めは平均点47.4

点、標準偏差2.6といった結果になった。自動染色機は安定した結果が出るのに対して、用手法は染色を行う際の手技によるバラツキが大きい結果となった。

3) 染色枚数による比較

1日の染色枚数が1〜30枚の16施設とそれ以上染色を行っている19施設間で、平均点の比較を行った。結果、1〜30枚の施設は平均点47.4点に対して、それ以上の施設では平均点48.5点であった。

今回のアンケート結果を使用した考察では、染色液の種類や調整方法よりも染色を行う病理検査技師の技術や知識が染色結果に影響があると推察される。

【結語】

今回のような他施設にて用意された標本を染色する場合、自施設のプロトコルで染色すると必ずしも良好な染色結果を得られない可能性がある。これら他施設の組織以外にも脱灰後の組織や数十年前の組織など、異なる条件の組織を染色する際はルーチン業務と異なるプロトコルを使用するなど臨機応変な対応が求められる。

そのためにも染色性の確認や染色液の使用期間の管理等の日常的な内部精度管理に加えて、今回のような外部精度管理による第三者による客観的な判定を行い、自施設においてより良好なHE染色のために検討、改善を行っていく必要があると考える。

【謝辞】

本年度の精度管理事業に際してご協力いただいた、信州大学医学部保健学科太田浩良先生（信州大学医学部保健学科教授・病理医）に感謝の意を表します。

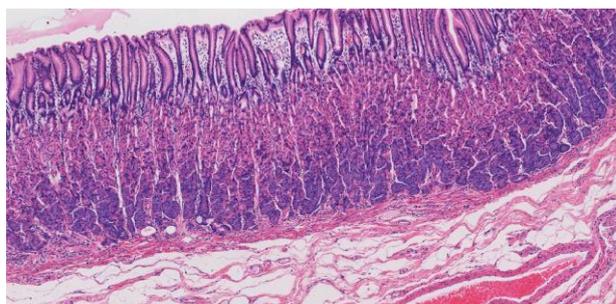


写真1. 胃底腺の染め分けが良好。A評価（50点）

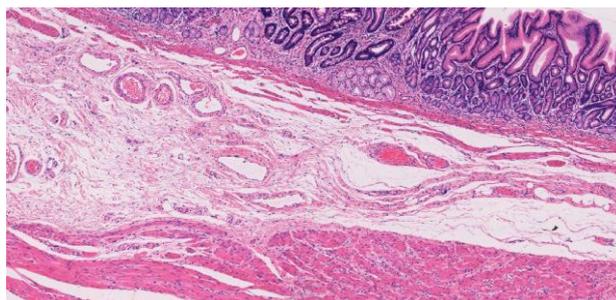


写真2. 間質の染め分けが良好。評価A（50点）

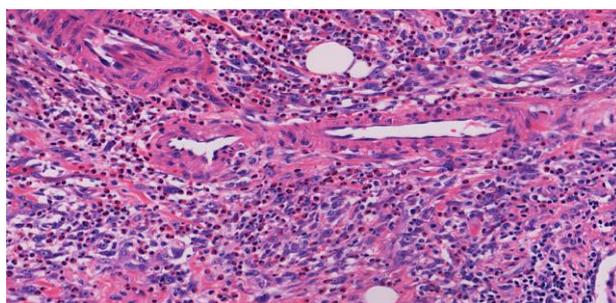


写真3. 好酸球が判別できる。評価A（50点）

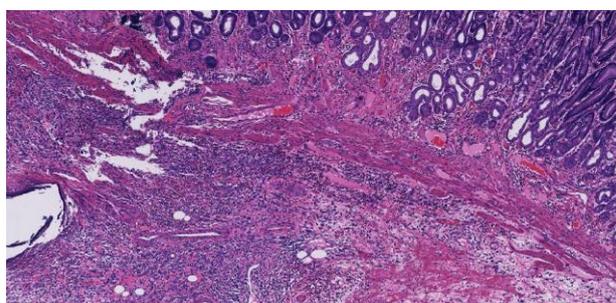


写真4. ヘマトキシリンが濃い。核の色調が不良。評価B（45点）

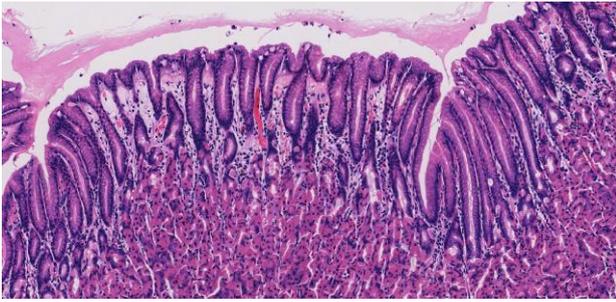


写真 5. 粘液への共染が見られる。 評価A (48 点)

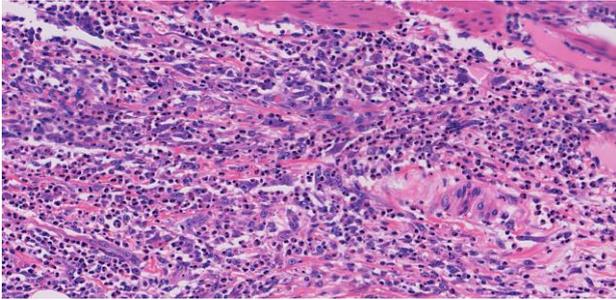


写真 6. 好酸球の判別が困難。 評価A (48 点)

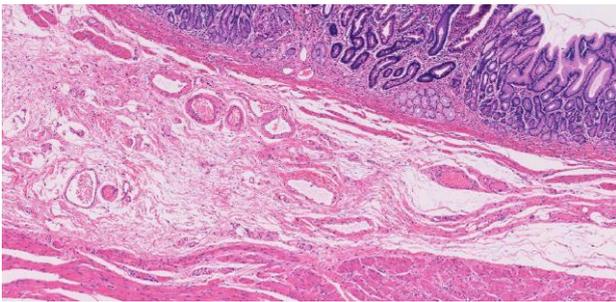


写真 7. 間質の染め分けが不良。 評価A (48 点)

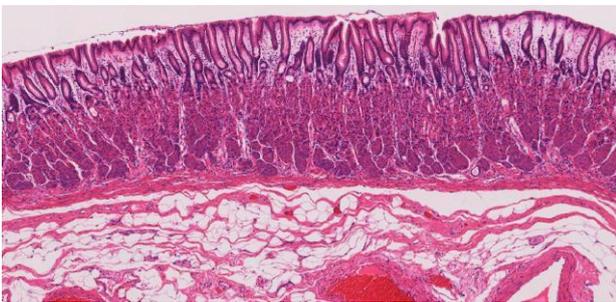


写真 8. エオジンのかぶりが強く、胃底腺の染め分けが不良。また染色バランスも不良。評価B (45 点)

II. EvG 染色における精度管理

【はじめに】

エラスチカ・ワンギーソン (Elastica van Gieson : 以下 EvG) 染色は、ワイゲルトのレゾルシン・フクシン法とワンギーソン染色を組み合わせ、弾性線維、膠原線維、筋線維を染め分ける結合組織の染色である。血管、肺、皮膚など弾性線維の豊富な組織の病変あるいは腫瘍の脈管侵襲や深達度など、多くの臓器で病態の把握に用いられる。そこで、今年度は長野県下の各施設の染色方法およびその染色性の調査目的で、EvG 染色の精度管理を実施した。

【材料・方法】

1. 材料及び実施要項

10%中性緩衝ホルマリンで 48 時間固定した大腸の手術材料を型どおりにパラフィン包埋し、約 3 μ m に薄切した未染色標本を 2 枚ずつ参加施設に配布した。

各施設にて染色後、いずれか良く染まった標本に丸印をつけてもらい、アンケート (染色方法、試薬の調合方法や自己評価などの調査目的) と共に 2 枚とも回収した。

2. 判定方法

病理検査研究班役員 9 名 (内、認定病理検査技師 5 名) および信州大学医学部保健学科太田浩良先生 (信州大学医学部保健学科教授・病理医) に依頼し、判定基準に従い評価した。太田先生には実際に診断する立場で評価、検閲していただいた。

1) 判定基準（評価点数）、判定のポイント

1. 弾性線維の染色態度（10点満点）

血管の弾性板や粘膜筋板、固有筋層の線維が明瞭に染色されているか（写真1,2）。

2. ピクリン酸の染色態度（10点満点）

筋線維や赤血球が明瞭に染色され、両者の染め分けができていないか（写真3）。

3. 酸性フクシンの染色態度（10点満点）

膠原線維が明瞭に染色され、大血管や上皮における細かい膠原線維まで染色できているか（写真4-7）。

4. 核の染色態度（10点満点）

弱拡大でも炎症細胞の核と上皮の核が認識できるか（写真8）。

5. 標本全体の染色態度（5点満点）

染色のバランス、染色ムラの有無

6. 封入状態（5点満点）

気泡の混入、カバーガラスの位置

減点方式で評価点を算出 合計 50点満点

2) 評価区分

評価点数をもとに4段階で評価した。

評価A：50～46点

診断上支障のない標本、良好な染色を示す標本

評価B：45～41点

改善の余地はあるが診断上支障の無い標本

評価C：40～31点

診断上支障が出る可能性がある標本

評価D：30点以下

診断不能な標本

【結果】

1. 成績

今年度の判定結果は、以下のとおりである。

(表1) 評価区分と施設数

評価	A		B	C	D	計
点数	50	49-46	45-41	40-31	30-0	
施設数	8	15	5	2	0	30
(%)	(26.7)	(50.0)	(16.7)	(6.7)	(0)	

評価Aのうち50点満点は8施設でそれらの標本は弾性線維の染色性が明瞭で、全体のバランスがとれた良好な染色であった（写真1-8）。また評価Aのうち49～46点の施設では弾性線維の染色性は明瞭なもの、ピクリン酸やワンギーソン液の色調や濃淡において各程度に応じて減点した（写真9-11）。

評価Bの施設は30施設中5施設あり、ワンギーソン液の染まりが悪く、全体の染色態度にも影響を及ぼし大きく減点となった（写真12-16）。

評価Cの施設は2施設あり、弾性線維の染色性が弱く小血管の認識が困難な標本（写真17-19）や、弾性線維は染まっているものの、背景の染色が強弾性線維の認識がやや困難な標本（写真20,21）であった。評価Dとなった施設は今年度は認めなかった。

評価項目と減点施設数は、以下のとおりである。

(表2) 減点項目の割合

項目	減点施設数	%
1. 弾性線維の染色態度	3施設	10.0
2. ピクリン酸の染色態度	9施設	30.0
3. 酸性フクシンの染色態度	13施設	43.3
4. 核の染色態度	8施設	26.7
5. 標本全体の染色態度	13施設	43.3
6. 封入状態	1施設	3.3

2. アンケート調査結果

2-1. 各施設の EvG 染色の状況

1) 1 週間の染色枚数

枚数	施設数 (%)	評価内訳
1~10	20 (66.7)	A (50) : 6 施設、A : 10 施設、 B : 2 施設、C : 2 施設
11~25	6 (20.0)	A (50) : 2 施設、 A : 3 施設、B : 1 施設
26~50	0 (0.0)	
51~100	2 (6.7)	A : 1 施設、B : 1 施設
無回答	2 (6.7)	A : 4 施設、B : 1 施設

1 週間の染色枚数が少ない施設でも高評価となっていた。

2) EvG 染色時の切片の厚さ

切片の厚さ (μm)	施設数 (%)
2	1 (3.3)
2~3	2 (6.7)
3	10 (33.3)
3~4	2 (6.7)
4	5 (16.7)
4~5	1 (3.3)
4~6	3 (10.0)
5	4 (13.3)
5~6	1 (3.3)
6	1 (3.3)

EvG 染色時の切片の厚さは 3 μm としている施設が最も多く、県内では多くが 3~4 μm の切片厚で施行されていた。

3) 経験年数

経験年数	施設数 (%)	評価内訳
5 年以下	9 (30.0)	A (50) : 3 施設、A : 4 施設、 B : 1 施設、C : 1 施設
6~10 年	7 (23.3)	A (50) : 3 施設、A : 2 施設、 B : 1 施設、C : 1 施設
11~15 年	5 (16.7)	A (50) : 1 施設、A : 2 施設、 B : 2 施設
16~20 年	1 (3.3)	A : 1 施設
21 年以上	6 (20.0)	A (50) : 1 施設、A : 4 施設、 B : 1 施設
無回答	2 (6.7)	A : 2 施設 (内、1 施設は機械染め)

今年度、EvG 染色を担当した技師の経験年数による差はほぼ認められなかった。経験年数が少ない技師でも高評価となる染色がおこなわれており、各施設において染色マニュアルがきちんと整備されているためだと考えられた。

2-2. 染色工程に関して

1) 親水処理

種 類	施設数 (%)
1%塩酸 70%アルコール	12 (40.0)
100%アルコール	1 (3.3)
95%アルコール	2 (6.7)
70%アルコール	6 (20.0)
ドライゾール	1 (3.3)
無し	7 (23.3)
無回答	1 (3.3)

約 7 割の施設で脱パラ・水洗後に親水処理をおこなっていた。

2) レゾルシン・フクシンの染色時間

時間	施設数 (%)
～30分	4 (13.3)
31～60分	17 (56.7)
90分～	9 (30.0)

レゾルシン・フクシンの染色時間は最短 5 分、最長が over night であり、60 分と回答した施設が最も多かった。

3) レゾルシン・フクシン後の分別

種類	施設数 (%)
1%塩酸 70%アルコール	7 (23.3)
100%アルコール	16 (53.3)
95%アルコール	5 (16.7)
ドライゾール	1 (3.3)
無し	1 (3.3)

レゾルシン・フクシン後の分別は、その後のピクリン酸の染色態度に影響を及ぼすが、多くの施設で分別がおこなわれており、7 割の施設が 95 もしくは 100%アルコールを使用していた。

4) ヘマトキシリンの染色時間

時間	施設数 (%)
～5分	17 (56.7)
10～15分	12 (40.0)
30分	1 (3.3)

※. 鉄ヘマトキシリン、マイヤー、カラッチ含む

ヘマトキシリンの染色時間は 5～15 分が最も多く、最短で 3 分、最長が 30 分であった。

5) ワンギーソン液の染色時間

時間	施設数 (%)
～5分	11 (36.7)
6～10分	13 (43.3)
11～20分	2 (6.7)
30分	4 (13.3)

ワンギーソン液の染色時間は 10 分が最も多く、最短時間は 1 分、最長時間は 30 分であった。

6) 脱水

種類	施設数 (%)
エタノール	28 (93.3)
ドライゾール	1 (3.3)
イソプロパノール	1 (3.3)

脱水操作は多くの施設でエタノールが使用されていた。

なお、各施設の染色工程の概要は最後に提示する (表 3)。

2-3. 各種染色液について

1) レゾルシン・フクシン液について

評価	A (50)	A	B	C	計
市販品	8	16	3	1	27
自家調製			2	1	3

市販品を使用している施設ではすべての施設で武藤化学のレゾルシン・フクシン液を使用していた。

自家調製品を使用している施設では、2 施設が原液作製法で、1 施設が色素結晶作製法であった。自家調製をおこなっている施設の標本は、市販品を使用している施設に比べ弾性線維の染まりはやや薄く染色される傾向があった。

2) 鉄ヘマトキシリン液について

評価	A (50)	A	B	C	計
市販品	7	7			14
自家調製	1	6	4	1	12

※. 鉄ヘマトキシリン以外のヘマトキシリンは除く
鉄ヘマトキシリン液を使用している施設は 26 施設であり、4 施設ではマイヤーやカラッチのヘマトキシリンを使用していた。マイヤーやカラッチのヘマトキシリンを使用している施設は上皮細胞の核が弱拡大では認識しにくい傾向があった。

3) ワンギーソン液について

評価	A (50)	A	B	C	計
市販品	7	7			14
自家調製	1	8	5	2	16

市販品を使用している施設のワンギーソン液はすべて武藤化学のワンギーソン液であった。またピクリン酸のみ自家調整し、武藤化学のワンギーソン液と混合して使用している施設もあった。

自家調整を行っている施設ではピクリン酸は富士フィルム和光純薬が 12 施設、次いで関東化学 2 施設、残り 2 施設はメーカー不明、酸性フクシンは富士フィルム和光純薬が 13 施設、次いでメルク、関東化学（それぞれ 1 施設）であった。またワンギーソン液にシリウスレッドを混和して使用していた施設が 1 施設あった。

ワンギーソン液の使用液はほぼすべての施設で飽和ピクリン酸 100mL に対してワンギーソン液 10~15mL を混和し使用していた。

【考察】

今年度は EvG 染色を実施した。参加施設は 30 施設で評価 A (46~50 点) が 23 施設であり、そのうち 50 点満点が 8 施設であった。評価 B (41~45 点) は 5 施設、評価 C (31~40 点) が 2 施設、評価 D (~30 点) となった施設はなかった。

レゾルシン・フクシン液を自家調整している施設は 3 施設あったが、いずれも弾性線維の染色性が弱い傾向をみとめ評価 B、C となっている。一方、市販品を使用している施設では染色時間に関わらず安定した染色態度であった。また鉄ヘマトキシリン液やワンギーソン液においても市販品を使用している施設の方が高評価となった。

今年度は酸性フクシン液の染色態度で減点された施設が多かった。標本が全体的に黄色に染色されていた標本は、酸性フクシンの染まりが弱いため標本全体のコントラストが弱く、弾性線維は認識できるものの、全体を把握することが困難であった。酸性フクシンが強い標本は膠原繊維が強く染まり、ピクリン酸で染まる赤血球や筋線維に

も酸性フクシンがかぶってしまい標本が全体的に赤色となっていた。これらはワンギーソン液調整時の酸性フクシンとピクリン酸の混合比の影響が最も大きいと考えるが、染色後の水洗・脱水操作により酸性フクシンやピクリン酸が流れ出てしまい、染色ムラや染色の後退の原因にも少なからず影響を与えていると考えられるため、ワンギーソン液に関しては調整方法のみならず染色時間や脱水時間も再度検討をしていただきたい。

【まとめ】

今回の精度管理調査において、EvG 染色では市販品を使用している施設はいずれも高評価となっており、現在、自家調製品を使用している施設については、今後、市販品の使用を検討する価値はあると考える。ただし、市販品といえども適正に使用・管理することが必要であり、長期間の使用は染色液の劣化を招き、共染の原因となる。使用開始日や染色枚数など施設の使用状況により使用期間を明確にすることが望まれる。

また各施設において酸性フクシンやピクリン酸の好まれる染色態度があると思われるが、今回の精度管理が、各施設の染色を見直すきっかけとなれば幸いである。

【謝辞】

精度管理調査をおこなうにあたり、実際に診断する立場で評価・検閲していただいた信州大学医学部保健学科 太田浩良先生に深謝いたします。

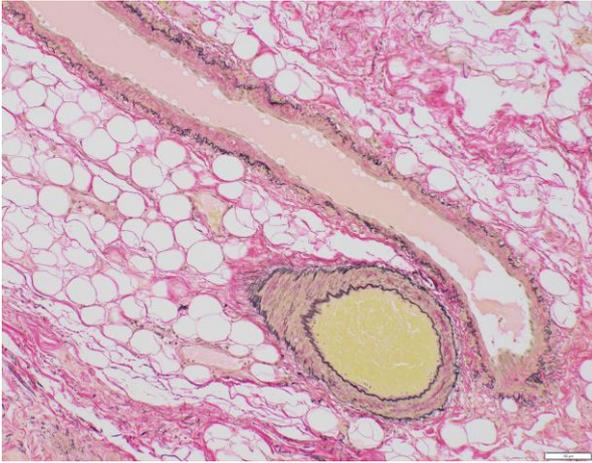


写真1. 大血管の弾性線維が明瞭に染色されている
(評価A 50点)

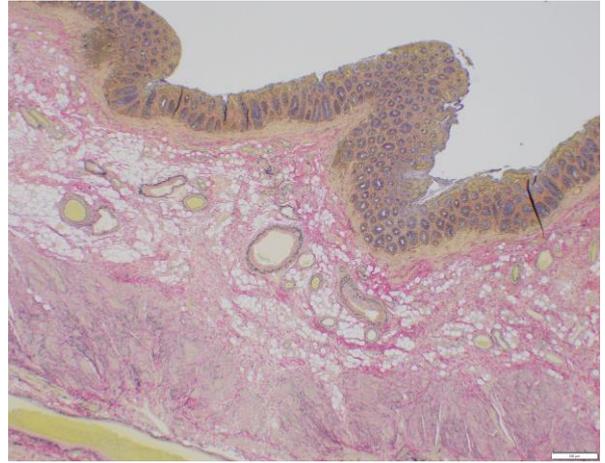


写真4. 膠原線維が赤色に染色され、全体のバランスが良好 (評価A 50点)

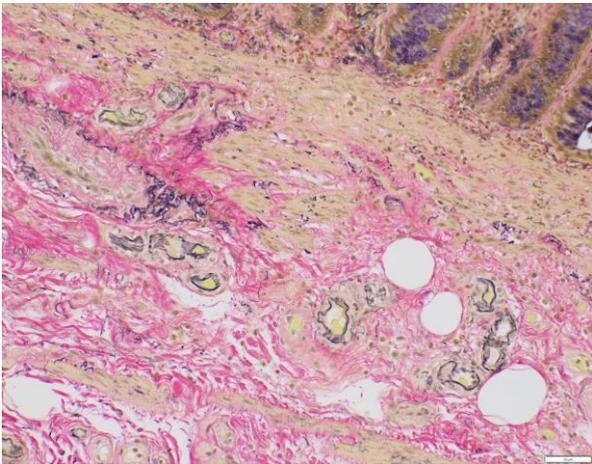


写真2. 小血管の弾性線維が明瞭に染色されている
(評価A 50点)

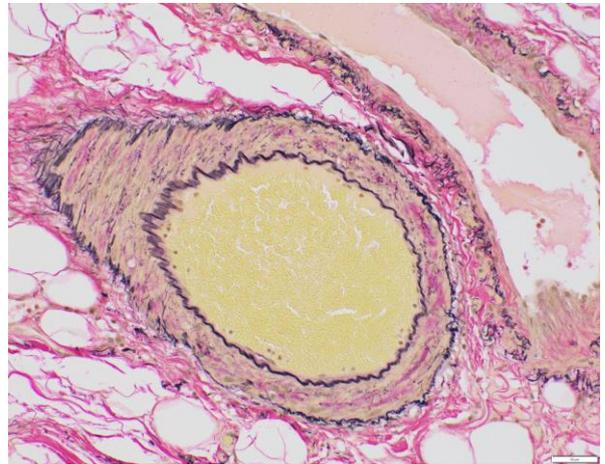


写真5. 血管壁(中膜)において平滑筋内の膠原線維が観察できる (評価A 50点)

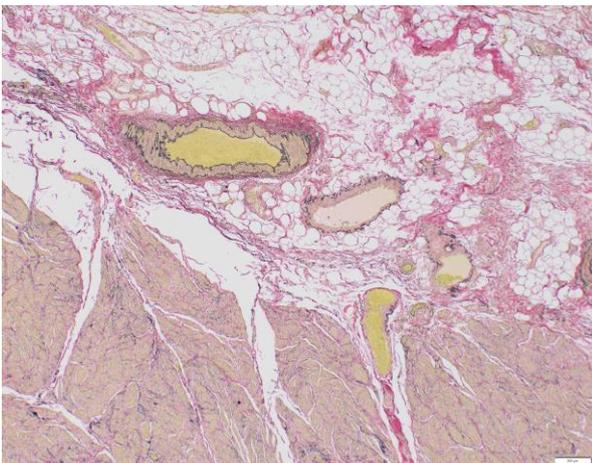


写真3. ピクリン酸が明瞭に染色され、赤血球と筋線維の染め分けができています (評価A 50点)

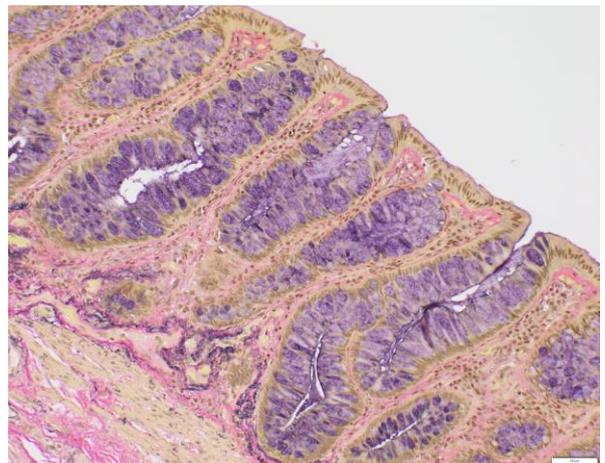


写真6. 粘膜上皮内の膠原線維がしっかり染色できている (評価A 50点)

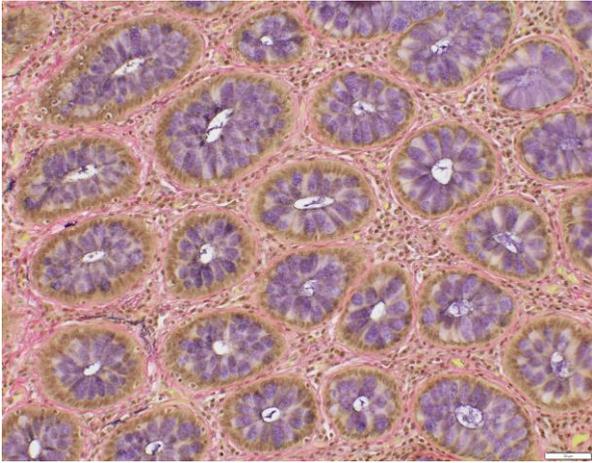


写真7. 粘膜上皮内の膠原線維がしっかり染色できている (評価A 50点)

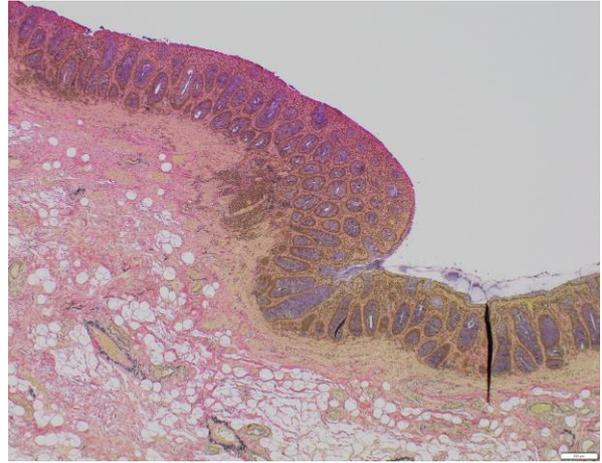


写真10. 染色ムラ (評価A 48点)

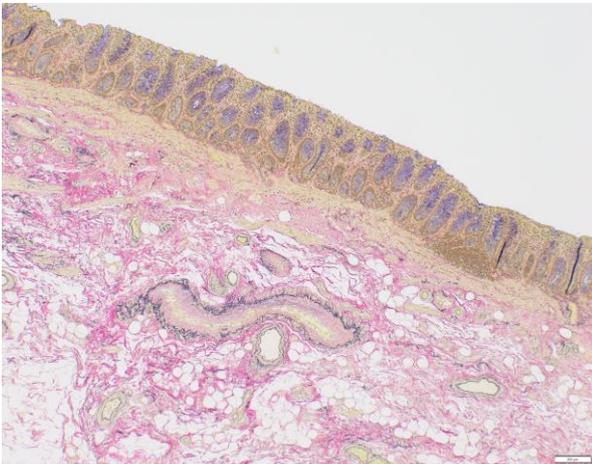


写真8. 弱拡大で上皮細胞の核が認識できる (評価A 50点)

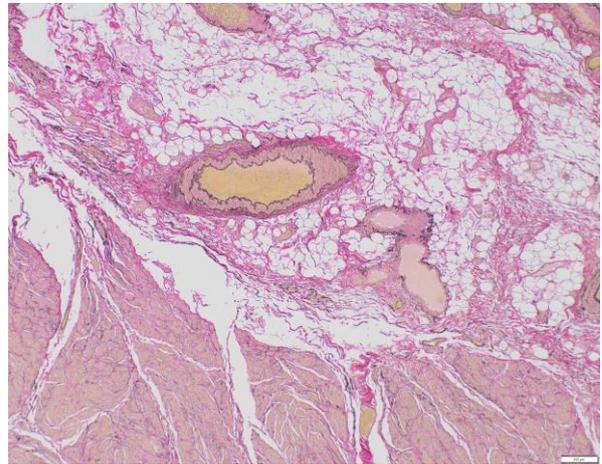


写真11. 酸性フクシンが濃く、ピクリン酸にかぶっているため、筋線維がやや赤く染まっている (評価A 47点)

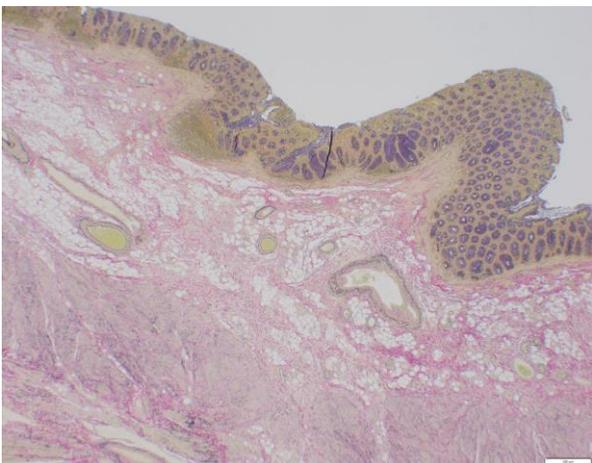


写真9. 酸性フキシンの染まりがやや薄い (評価A 49点)

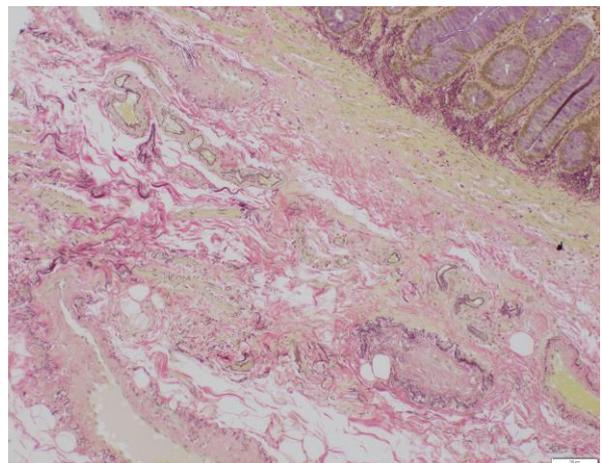


写真12. 弾性線維の染まりが弱く、小血管の認識がやや困難 (評価B 44点)

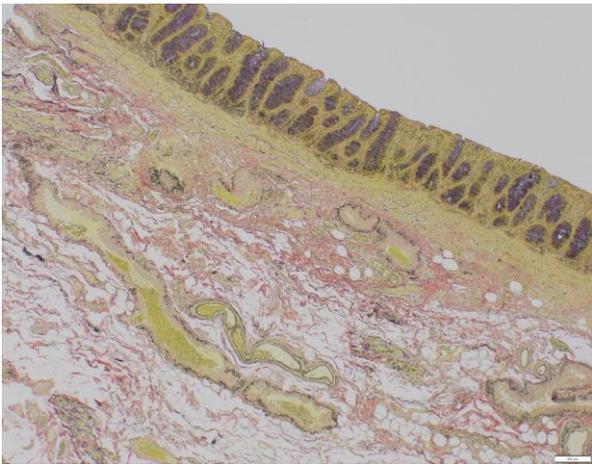


写真 13. 酸性フクシンの染まりが不良で全体的に黄色味の強い標本 (評価 B 42 点)

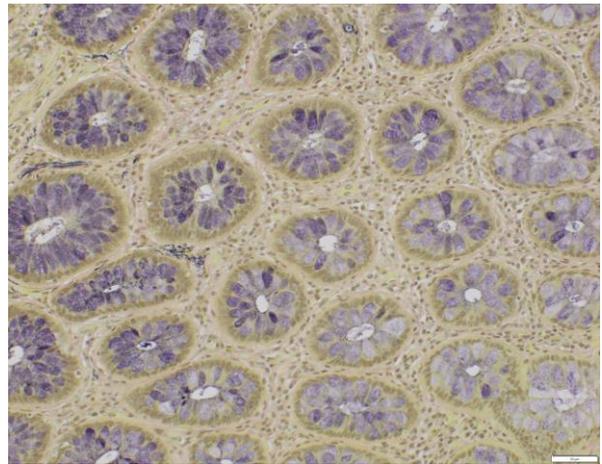


写真 16. 膠原線維の染色が薄く、粘膜上皮における膠原線維が染まっていない (評価 B 42 点)

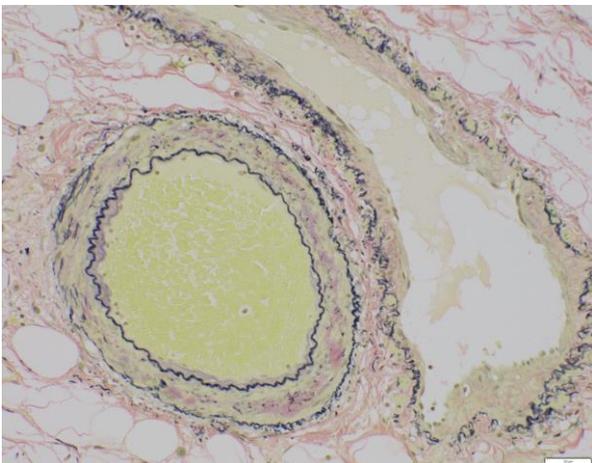


写真 14. 酸性フクシンが薄く、メリハリのない標本 (評価 B 42 点)

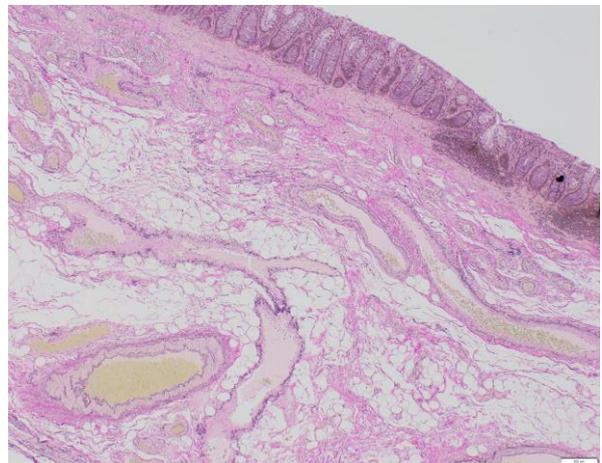


写真 17. ピクリン酸の染色が不良で全体的に赤味の強い標本 (評価 B 42 点)

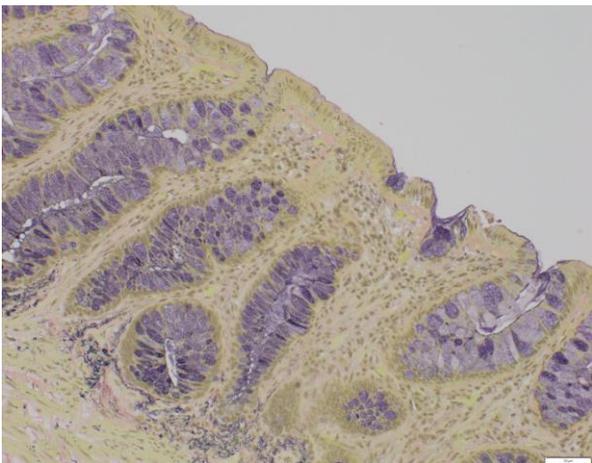


写真 15. 膠原線維の染色が薄く、粘膜上皮における膠原線維が染まっていない (評価 B 42 点)

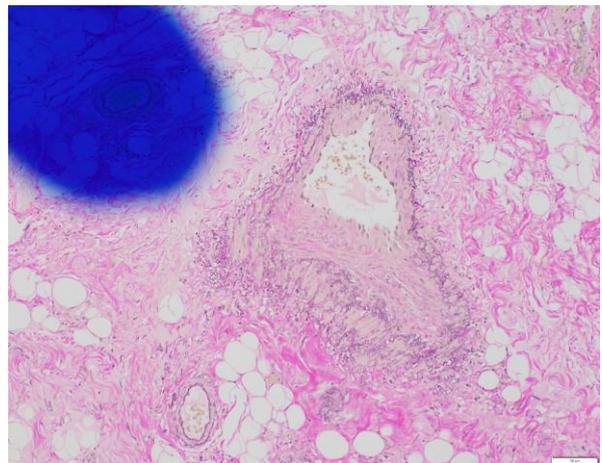


写真 18. 静脈の弾性線維が淡く染まっており、やや認識困難 (評価 C 40 点)

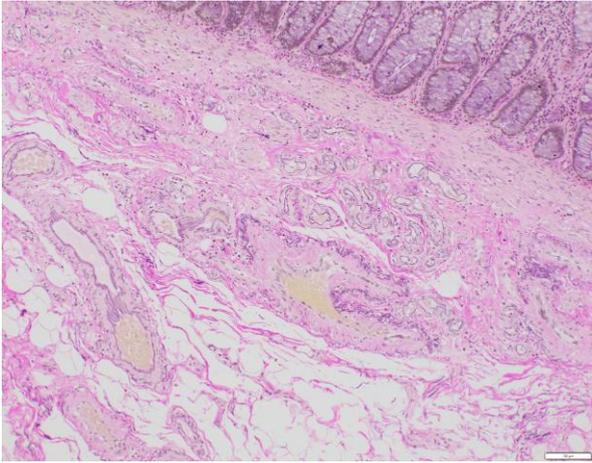


写真 19. 弾性線維の染まりが薄く、小血管の弾性線維は認識が困難（評価C 40点）

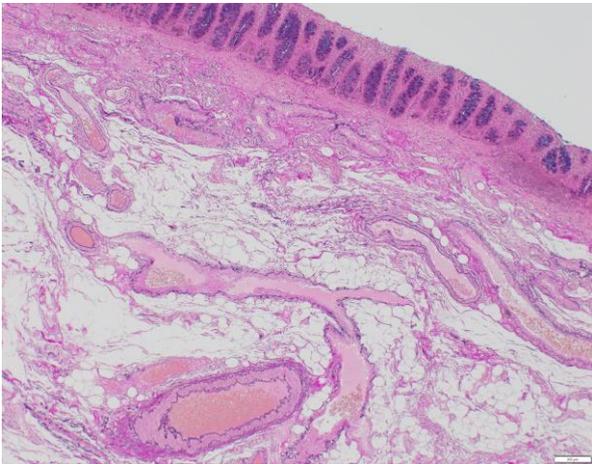


写真 20. ピクリン酸が弱く、全体的に赤みの強い標本（評価C 39点）

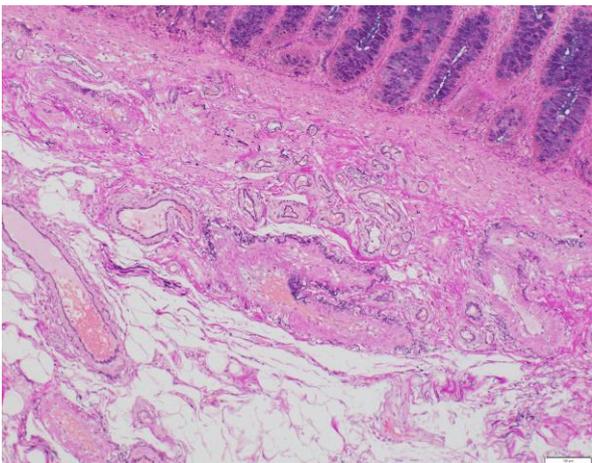


写真 21. ワンギーソン染色が強く、小血管の弾性線維の認識がやや困難（評価C 39点）

HE 染色担当：
長野赤十字病院 病理部
御子柴 柊介

EvG 染色担当：
松本協立病院 検査科
仲田 梨恵

病理検査精度管理責任者：
松本協立病院 検査科
仲田 梨恵

表 3. 2023 年度 精度管理調査 EvG 染色 染色工程概要

総合判定	親水処理	レゾルシン・フクシン液の染色時間	レゾルシン・フクシン後の分別	鉄ヘマトキシリンの染色時間	鉄ヘマトキシリン後の分別	鉄ヘマトキシリン後の色だし、水洗方法	色だし、水洗時間	ワンギーソン液の染色時間	脱水に使用している液
A (50)	ドライゾール	60 分	ドライゾール	10~15 分	1%塩酸 70%AL	温水	5 分	30 分	ドライゾール
A (50)	1%塩酸 70%AL	60 分	100%AL	5 分	1%塩酸 70%AL	流水 (水道水)	5 分	15 分	エタノール
A (50)	1%塩酸 70%AL	90 分以上	1%塩酸 70%AL	10 分	無回答	温水	10 分	2 分	エタノール
A (50)	95%AL	60 分	95%AL	10 分	1%塩酸 70%AL	流水 (水道水)	5 分	10 分	エタノール
A (50)	無し	30 分	100%AL	5 分	無し	流水 (水道水)	3 分	1 分	エタノール
A (50)	1%塩酸 70%AL	60 分	100%AL	5 分	100%AL	流水 (水道水)	10 分	10 分	エタノール
A (50)	1%塩酸 70%AL	60 分	100%AL	5 分	無し	流水 (水道水)	10 分	10 分	エタノール
A (50)	1%塩酸 70%AL	5 分	100%AL	5 分	無し	流水 (水道水)	10 分	10 分	エタノール
A	70%AL	60 分	100%AL	12 分	1%塩酸 70%AL	温水	3 分	30 分	エタノール
A	無し	30 分	100%AL	10 分	無し	流水 (水道水)	10 分	5 分	エタノール
A	70%AL	50 分	100%AL	5 分	無し	流水 (水道水)	10 分	5 分	エタノール
A	1%塩酸 70%AL	120 分	100%AL	5 分	無し	流水 (水道水)	10 分	10 分	エタノール
A	70%AL	60 分	95%AL	3 分	1%塩酸 70%AL	流水 (水道水)	5 分	6 分	エタノール
A	70%AL	45 分	95%AL	10 分	無し	流水 (水道水)	15 分	10 分	エタノール
A	無し	90 分	1%塩酸 70%AL	5 分	無し	流水 (水道水)	10 分	5 分	エタノール
A	1%塩酸 70%AL	120 分	100%AL	5 分	無し	流水 (水道水)	10 分	10 分	エタノール
A	1%塩酸 70%AL	90 分	1%塩酸 70%AL	10 分	1%塩酸 70%AL	温水	10 分	1 分	エタノール
A	1%塩酸 70%AL	60 分	1%塩酸 70%AL	5 分	無し	流水 (水道水)	10 分	10 分	エタノール
A	70%AL	60 分	100%AL	5 分	無し	温水	10 分	30 分	エタノール
A	1%塩酸 70%AL	60 分	100%AL	5 分 (マイヤー)	無し	流水 (水道水)	10 分	5 分	イソプロパノール
A	100%AL	40 分	100%AL	5 分	0.25%塩酸水	アンモニア水	NH3:4 秒,水 2 分	10 分	エタノール
A	無し	90 分	100%AL	10 分 (カラッチ)	0.25%塩酸水	温水	無回答	10 分	エタノール
A	1%塩酸 70%AL	60 分	100%AL	5 分	無し	流水 (水道水)	10 分	30 分	エタノール
B	無回答	over night	無し	15 分	無し	流水 (水道水)	15 分	10 分	エタノール
B	1%塩酸 70%AL	60 分	1%塩酸 70%AL	10 分	1%塩酸 70%AL	流水 (水道水)	10 分	5 分	エタノール
B	70%AL	60 分	1%塩酸 70%AL	5 分 (マイヤー)	無し	流水 (水道水)	5 分	5 分	エタノール
B	無し	30 分	1%塩酸 70%AL	10 分	無し	流水 (水道水)	5 分	10 分	エタノール
B	無し	180 分	95%AL	30 分	1%塩酸 70%AL	流水 (水道水)	10 分	5 分	エタノール
C	無し	60 分	100%AL	15 分	無し	流水 (水道水)	15 分	5 分	エタノール
C	95%AL	90 分	95%AL	5 分 (ヘマトキシリン 3G)	無し	流水 (水道水)	10 分	20 分	エタノール

AL : アルコール