

# 病理部門

## 精度管理事業委員

加藤 浩

春日井市民病院

TEL (0568) 57-0057

## 実務委員

迫 欣二

厚生連加茂病院

鈴木 利明

名古屋大学医学部附属病院

## 病理検査の精度管理調査

はじめに

アミロイド染色には、コンゴ赤染色（Bennhold 法、Highman の変法、Puchtler-Sweet らの方法、Phenol congo red 法）をはじめとして、Direct Fast Scarlet 法（以下DFS法）、ダイロン法やクリスタル紫等による metachromasia 法、ヨード反応、チオフラビンS及びT法、免疫染色などがある。しかし、現在アミロイドの診断基準としてコンゴ赤、DFS、ダイロン（Pagoda red）で陽性に染まり、偏光顕微鏡下で黄緑～緑色に複屈折性を呈すればアミロイドとすることが広く支持されている。今回施設により染色法が異なると思われるアミロイド染色を取り上げた。それぞれの染色法について考察する。また、AAとAA以外のアミロイドの鑑別についてもアンケートを行ったので合わせて報告する。

〔対象及び評価法〕

### 1. 対象施設

参加申し込みがあった47施設のうち、回収できた44施設44枚の標本を対象とした。

### 2. 評価方法

精度管理委員及び病理研究班班員14名により施設名を伏せた状態で評価を行った。

（評価の項目）

- ・ アミロイドの染色性（染色の濃淡など）
- ・ 染色むら
- ・ 共染の有無
- ・ 核の染色態度

上記4項目について、良（2点）、可（1点）、不可（0点）で判定した。

ただし、アミロイドの染色性は、良（4点）、可（2点）、不可（0点）とし合計10点満点とした。

（総合判定）

染色評価4項目それぞれの平均点（小数第2位四捨五入）の合計で総合判定をした。

総合評価は A：染色上、目的を十分に達している。（8点以上）

B：染色上、目的を達している。（6点～8点未満）

C：染色上、目的を達しているが、今一步である。（4点～6未満）

D：染色上、目的を達していない。（4点未満）

E：標本未提出のため判定不能。

以上のように判定し、寸評もつけた。

結果

(染色別施設数)

アミロイドの染色法(表1)は、DFS法14施設(32%)、コンゴ赤 Bennhold 法14施設(32%)と2法で28施設(64%)をしめた。DFS法は、染色性が強いため、見落としや疑陽性が少なく、染色液の調整が簡単で短時間で染められる。分別の難しさがなく、膠原線維などの共染が少ない。個人差の少ない安定した染色結果がえられることから多くの施設が採用していると考え。また、コンゴ赤 Bennhold 法は、染色液の調整が簡単で長期保存が可能である。

染色液も市販されており、多くの施設が採用している理由と考える。

(染色法別評価)

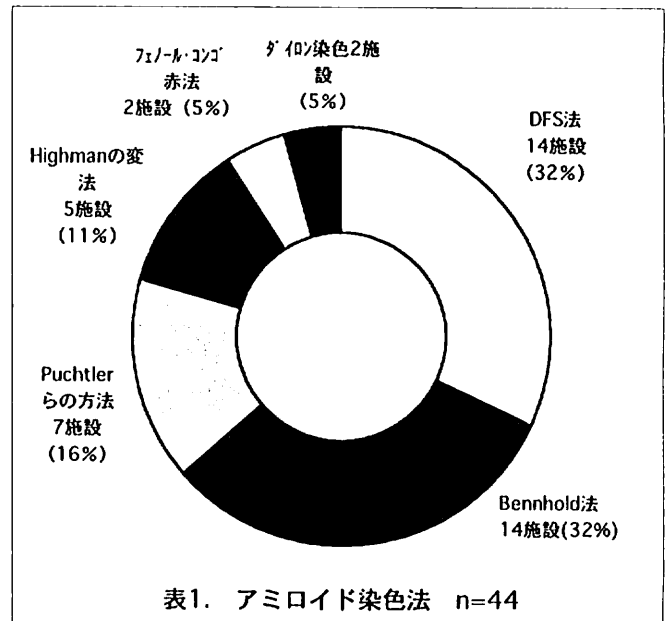
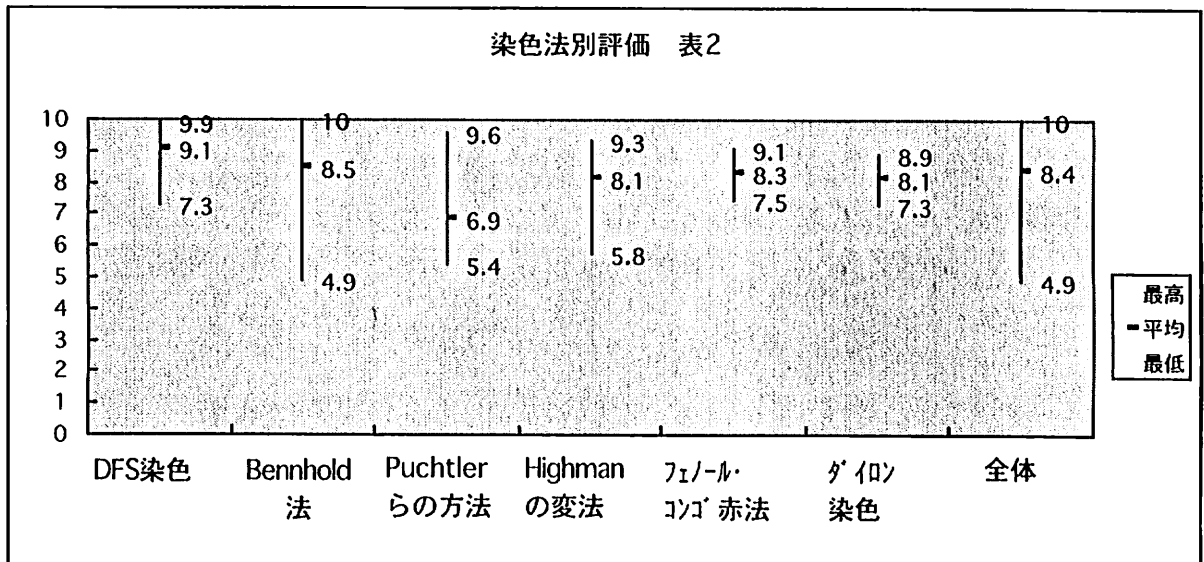


表1. アミロイド染色法 n=44



染色法別評価(表2)では、DFS法が平均9.1と高い評価をえた。(写真1)(写真2)コンゴ赤 Bennhold 法は、平均8.5であったが最高が満点の10(写真3)、最低が4.9と幅があった。低い点数の標本は、コンゴ赤の染色性が弱く分別の難しさが伺える。それぞれの染色法について考察する。

(DFS染色) 14施設(32%)

染色液の組成と染色温度は、DFSに無水炭酸ナトリウムを加えたものは9施設ありすべて室温で染色していた。染色時間は、10分、20分、30分がそれぞれ3施設ずつであった。分別は、なしが6施設、イソプロパノールが3施設であった。DFSに塩化ナトリウム

を加えたものは、すべて加温染色（50～60℃）していた。染色時間は、1時間が4施設、20分が1施設であった。分別は、すべて3%硫酸銅3分であった。DFSに無水炭酸ナトリウムを加えた施設と塩化ナトリウムを加えた施設の評価の平均は、9.2と9.0で差は認めなかった。

〔コンゴ赤 Bennhold 法〕 14施設（32%）

染色温度と染色液濃度は、すべての施設で室温と1%コンゴ赤であった。染色時間は、60分が13施設、90分が1施設であった。分別時間は、0.01%水酸化ナトリウムが13施設、アセトンが1施設であった。分別時間は、手早くから数秒が13施設、30秒が1施設であった。30秒分別した標本は、コンゴ赤の染色性が弱く評価も低かった。Bennhold 法を行った施設の評価は、1.0から4.9と差が見られコンゴ赤の共染が見られるものや染色性が弱い標本（写真4）までさまざま、分別の難しさが伺える。

〔コンゴ赤 Puchtler-Sweet 法〕 7施設（16%）

媒染液は、すべての施設でアルカリ・塩化ナトリウム・アルコールであった。媒染時間は、20分が6施設、40分が1施設であった。コンゴ赤の濃度は、0.12%が3施設、0.2%が2施設、0.25%と0.15%が1施設ずつであった。染色時間は、20分が4施設、30分が1施設、60分が2施設であったが、染色液濃度が低く染色時間が短いものは染色性が弱いものが多かった。また共染が見られるものもあった。（写真5）

〔コンゴ赤 Highman の変法〕 5施設（11%）

コンゴ赤の染色液濃度は、0.5%が4施設、0.3%が1施設であった。染色温度はすべて室温で染色し、染色時間は約1時間が4施設、2時間が1施設であった。分別は0.01%水酸化ナトリウム・アルコールが3施設、0.2%水酸化カリウム・アルコールが2施設であり、分別時間は数秒から30秒までさまざまであったが、分別液や分別時間で評価に差を認めなかった。

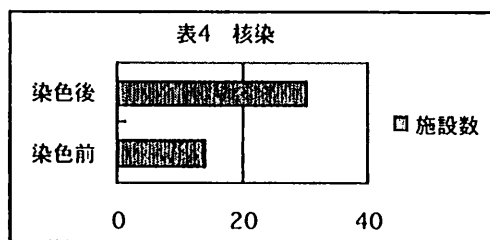
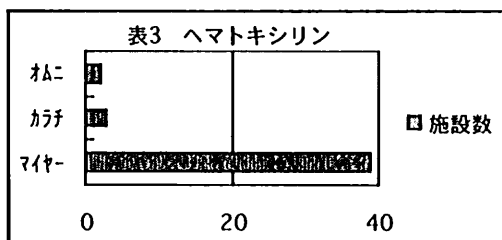
〔フェノール・コンゴ赤〕 2施設（5%）

染色液濃度と染色時間は、1%1時間が1施設、0.1%30分が1施設であった。分別は、2施設とも行っていなかった。

〔ダイロン染色〕 2施設（5%）

染色温度と染色時間は、50℃1時間が1施設、室温1晩が1施設であった。分別は、2施設とも3%硫酸銅3分であった。

(核染)



ヘマトキシリンによる核染は、マイヤーが39施設、カラチが3施設、オムニが2施設であった。染色手順はアミロイド染色前に行う施設は14施設で、Puchtler らの方法やDFS法が多かった。アミロイド染色後に行った施設は30施設であった。ヘマトキシリンのメーカーや染色手順の違い、染色時間による評価の差は認めなかったが、ヘマトキシリンが心筋まで共染している標本も見られた。(写真6)

#### (AAアミロイドの鑑別)

AAアミロイドとAA以外のアミロイドの鑑別をルーチンで行っている施設は、“病理医の依頼があれば行う”を含めると17施設、行っていない施設は24施設であった。鑑別を行っている17施設のうちKMnO<sub>4</sub>処理だけで鑑別している施設は14施設、免疫染色で行っている施設は1施設、2法を併用している施設は2施設であった。

#### まとめ

アミロイド染色には、多くの方法があり、どの方法を採用するかはその施設の考え方によって違う。今回の精度管理事業では、診断に影響をきたすほどの染色はなくおおむね満足の行く結果であったが、アミロイド沈着量が少ない検体や染色性が弱い皮膚限局性アミロイドーシスでは、アミロイドが染色されないのではないかと思われる程染色性が弱い標本もあった。その原因としては、分別の難しさがあげられる。分別は、結合組織が完全に脱色されるまで行うのが原則であるが、陽性対照を顕微鏡で確認しながら行わないと疑陰性になる恐れがある。今回行われた染色法の中では、DFS法が全体的に高い評価を得ており、成績、再現性共に優れている方法と考えられる。DFS法は、アミロイド染色を依頼されたら First choice したい染色法であると考ええる。

最後に今回参加していただいた施設に厚くお礼を申し上げますと同時に、これからも精度管理事業に積極的に参加していただきますようお願い申し上げます。

#### (参考文献)

- 内野文弥：アミロイドの病理組織学的検索、検査と技術 20：707～719、1992  
横田忠明：アミロイドの染色、検査と技術 14：791～795、1986  
田村邦夫：アミロイドの日常染色法、検査と技術 26：153～159、1998  
星野嘉信：コンゴ赤染色と免疫組織化学、Medical Technology 26：871～874、  
1998

【メモ】にA本、脚紙をゆすいで、脚紙をぬき下す、お墨跡をふきとって半寸の  
 口の巾着状の袋に入れ、その袋裏に足跡紙を付し、筒の裏に半寸口まで足跡紙を張る、或は紙  
 をぬき、口を半寸の袋の口でゆすいで、お墨跡をぬき、筒の裏に半寸口まで、或は紙を張る、  
 口をぬき、口を半寸の袋の口でゆすいで、お墨跡をぬき、筒の裏に半寸口まで、或は紙を張る、

(0.25) 式は、お墨跡をぬき、筒の裏に半寸口まで、或は紙を張る、  
 (0.25) 式は、お墨跡をぬき、筒の裏に半寸口まで、或は紙を張る、

足跡紙”は、お墨跡をぬき、筒の裏に半寸口まで、或は紙を張る、  
 お墨跡をぬき、筒の裏に半寸口まで、或は紙を張る、  
 お墨跡をぬき、筒の裏に半寸口まで、或は紙を張る、  
 お墨跡をぬき、筒の裏に半寸口まで、或は紙を張る、  
 お墨跡をぬき、筒の裏に半寸口まで、或は紙を張る、

お墨跡をぬき、筒の裏に半寸口まで、或は紙を張る、  
 お墨跡をぬき、筒の裏に半寸口まで、或は紙を張る、  
 お墨跡をぬき、筒の裏に半寸口まで、或は紙を張る、  
 お墨跡をぬき、筒の裏に半寸口まで、或は紙を張る、  
 お墨跡をぬき、筒の裏に半寸口まで、或は紙を張る、  
 お墨跡をぬき、筒の裏に半寸口まで、或は紙を張る、  
 お墨跡をぬき、筒の裏に半寸口まで、或は紙を張る、  
 お墨跡をぬき、筒の裏に半寸口まで、或は紙を張る、  
 お墨跡をぬき、筒の裏に半寸口まで、或は紙を張る、  
 お墨跡をぬき、筒の裏に半寸口まで、或は紙を張る、

お墨跡をぬき、筒の裏に半寸口まで、或は紙を張る、  
 お墨跡をぬき、筒の裏に半寸口まで、或は紙を張る、

(0.25) 式は、お墨跡をぬき、筒の裏に半寸口まで、或は紙を張る、

- 0.25 式は、お墨跡をぬき、筒の裏に半寸口まで、或は紙を張る、
- 0.25 式は、お墨跡をぬき、筒の裏に半寸口まで、或は紙を張る、
- 0.25 式は、お墨跡をぬき、筒の裏に半寸口まで、或は紙を張る、
- 0.25 式は、お墨跡をぬき、筒の裏に半寸口まで、或は紙を張る、
- 0.25 式は、お墨跡をぬき、筒の裏に半寸口まで、或は紙を張る、
- 0.25 式は、お墨跡をぬき、筒の裏に半寸口まで、或は紙を張る、
- 0.25 式は、お墨跡をぬき、筒の裏に半寸口まで、或は紙を張る、
- 0.25 式は、お墨跡をぬき、筒の裏に半寸口まで、或は紙を張る、
- 0.25 式は、お墨跡をぬき、筒の裏に半寸口まで、或は紙を張る、
- 0.25 式は、お墨跡をぬき、筒の裏に半寸口まで、或は紙を張る、

# 病理検査

## 評価の高かった標本

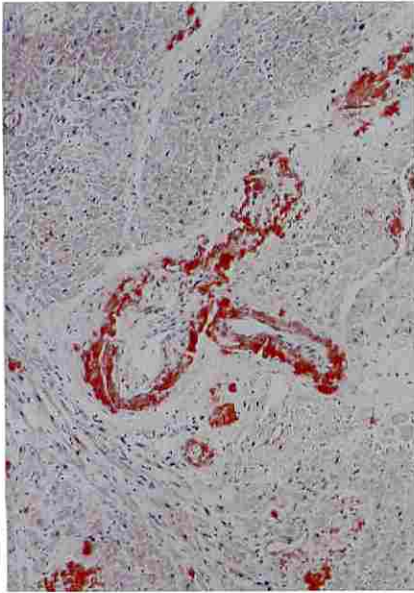


写真 1  
DFS染色

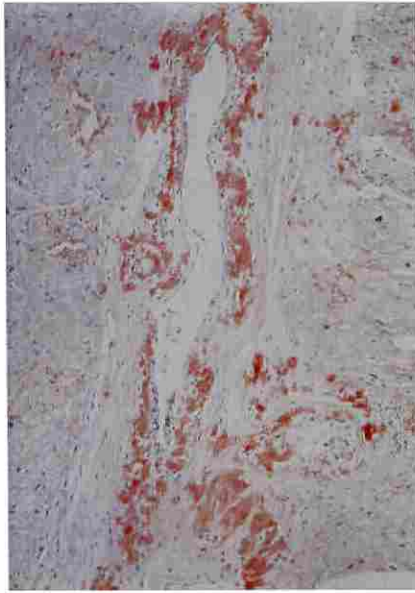


写真 2  
DFS染色

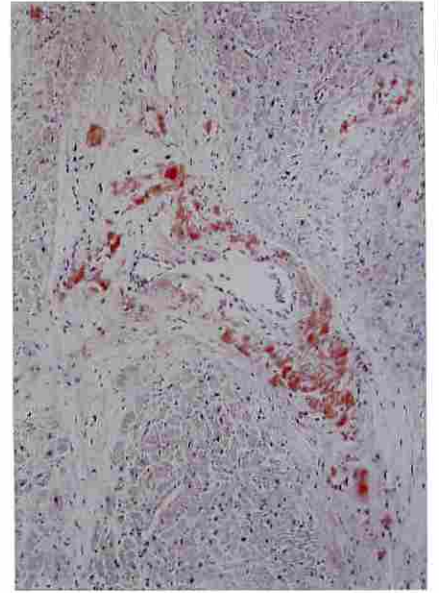


写真 3  
コンゴ赤  
Bennhold法

## 評価の低かった標本

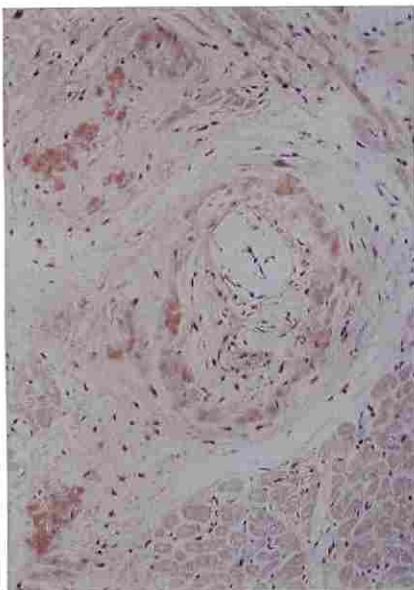


写真 4  
コンゴ赤  
Bennhold法

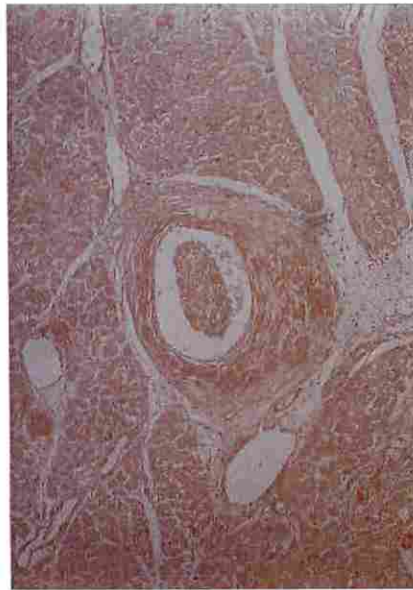


写真 5  
コンゴ赤  
Puchtler-Sweet法

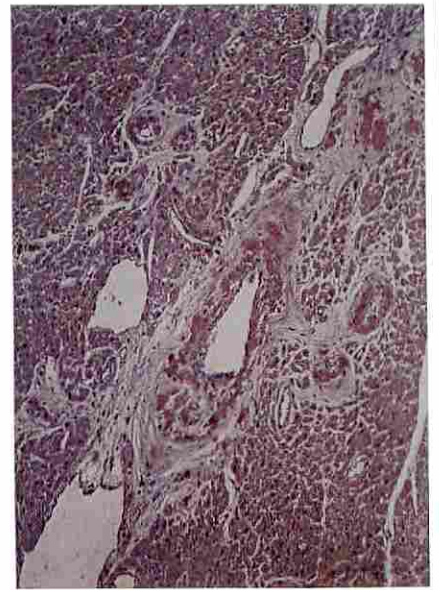


写真 6  
コンゴ赤  
Bennhold法

## 平成 11 年度精度管理事業委員会

委員長 (担当副会長)	永島 昇	東海産業医療団中央病院
情報システム (編集担当)	加藤 千秋	名古屋大学医学部附属病院
臨床化学部門	中根 生弥	厚生連加茂病院
血清部門	余郷 とし子	名古屋第一赤十字病院
血液部門	清水 宏伸	愛知医科大学附属病院
一般部門	滝 賢一	愛知医科大学附属病院
生理部門	江崎 吉美	名鉄病院
輸血部門	松原 優	厚生連更生病院
微生物部門	白石 了三	半田市医師会健康管理センター
細胞部門	佐藤 初代	豊川市民病院
病理部門	加藤 浩	春日井市民病院
遺伝子部門	鬼頭 邦吉	愛知県立尾張病院
学術部長	山崎 良兼	厚生連加茂病院
会長	稲垣 勇夫	木曾川町立木曾川病院



ご協力団体・会社名簿（五十音順・敬称略）

愛知県赤十字血液センター

株式会社エスアールエル

株式会社スズケン

株式会社ニプロ

株式会社京都第一科学

国際試薬株式会社

福祉・医療技術振興会

和光純薬工業株式会社

---

平成 12 年 3 月発行 （非売品）

発行人 稲垣 勇夫

編集人 永島 昇 加藤 千秋

発行所 名古屋市中村区名駅 5-16-17 花車ビル南館  
愛知県臨床衛生検査技師会

印刷所 西春日井郡西春町大字沖村権現 12  
株式会社 新生堂