

# 病 理 部 門

## 精度管理事業委員

滝野 寿

名古屋市立大学 医学部

TEL 052-853-8161

## 実務委員

富貴田 誠一 小牧市民病院  
加藤 浩 春日井市民病院

# 病理検査の精度管理調査

## はじめに

鍍銀染色は、結合組織構成線維の中の、いわゆる細網線維 Reticulin fiber を染め出すことを目的とする。細網線維は、細胞間質にヒトデのように四方へ突起をつながりあう網状の細網細胞と寄り添い、細くて枝分かれに富み、繊細な網ないし格子状をなすことから、格子線維 Lattice fibers、Gitterfasern の別名をもつ。これら細網細胞、細網線維とでできた組織は細網組織と呼ばれ、リンパ様組織、脾臓、骨髄、脂肪組織に存在する。<sup>1)</sup> 前年度の線維性結合組織染色エラスチカ・ワンギーソン染色についての調査につづいて、今年度は同じく線維性結合組織染色である鍍銀染色について調査を行った。

## 材料と方法

### (1) 参加施設

平成14年度愛知県臨床検査精度管理調査に参加申し込みのあった92施設のうち、病理検査の精度管理調査については45施設の参加申し込みがあった。参加各施設に未染色標本を2枚送付し、自施設法にて染色を行ってもらい、1枚を返送してもらった。

### (2) 材料

剖検材料の直腸周囲転移性腫瘍組織。1才女性、口腔粘膜原発横紋筋肉腫。10%ホルマリン固定後型どおりパラフィン包埋、6 $\mu$ mの厚さで薄切した未染標本。

### (3) 評価方法

精度管理委員および病理検査研究班16名により、各施設名を伏せた状態にて検鏡を行い、以下の8つの染色判定基準に従って20点満点で点数化し、16名の合計を平均して各施設の評価点数とした。

I. 染色のむら	有 (0点) / 無 (2点)
II. 共染・過染	有 (0点) / 無 (2点)
III. 細網線維の染まり具合	濃 (1点) / 適当 (3点) / 薄 (1点)
IV. 膠原線維の染まり具合	濃 (1点) / 適当 (3点) / 薄 (1点)
V. 細網線維・膠原線維の染め分け	有 (3点) / 無 (1点)
VI. 核の染色性	濃 (1点) / 適当 (3点) / 薄 (1点)
VII. 銀粒子の沈着	有 (0点) / 無 (2点)
VIII. ぶどうの房構造	有 (2点) / 無 (0点)

合計点を5倍して100点満点に換算して、以下の基準で5段階の評価とした。

A判定	80点以上	「染色上、目的を十分に達している」
B判定	70～79点	「染色上、目的に達している」
C判定	60～69点	「染色上、目的に達しているが、今一步である」
D判定	59点以下	「染色上、目的に達していない」
E判定	標本未提出	「標本未提出のため判定不能」

なお、D判定になった施設についてはその原因について検討し、アドバイスを加えて、再度標本を送付し、染色を行ってもらった。

## (4) 設問

鍍銀染色の手順、条件に関する14項目の設問について回答いただき、統計的にまとめた。

- 設問1 鍍銀染色の染色手順と条件
- 設問2 銀液の廃棄について
- 設問3 鍍銀染色の年間染色枚数
- 設問4 組織固定液の濃度
- 設問5 対象標本同時染色の有無
- 設問6 対象標本の組織名
- 設問7 鍍銀染色標本に対する満足度
- 設問8 鍍銀染色に対する問題点
- 設問9 染色した技師の経験年数
- 設問10 前回の精度管理調査への参加の有無
- 設問11 日臨技標準法を知っているか否か
- 設問12 日臨技標準法の経験の有無
- 設問13 今後の日臨技標準法の採用の有無
- 設問14 鍍銀染色に対する意見等

## 結果

参加申し込みのあった45施設中、回答のあった施設は42施設（回収率93%）であった。また、搬送中に未染色標本が破損していた施設が2施設あり、内1施設については染色不能の状態であったため、未染標本を再送し染色後送付してもらった。

## (1) 染色標本の評価

総合判定にて、各評価の比率は下記ようになった。

A判定	18施設	(40.0%)
B判定	12施設	(26.7%)
C判定	4施設	(8.9%)
D判定	8施設	(17.8%)
E判定	3施設	(6.7%)

鍍銀染色では核が黒～えんじ色に染め出されるが、酸化条件や液の処方等により、核がはっきりと染め出されないことがある。今回ヘマトキシリンで後染して核の染まりを補っている施設が8施設あり、後染を行っている群とそうでない群について評価の割合は下記ようになった。

	後染なし	後染あり
A判定	14施設	4施設
B判定	10施設	2施設
C判定	3施設	1施設
D判定	7施設	1施設

A判定で後染ありの標本(写真1、2)、A判定で後染なしの標本(写真3、4)で最も評価の高かったもの、またD判定(後染なし)の標本(写真5、6)を掲載した。

写真1、2は、膠原線維、細網線維の染め分けが十分にされているが、強拡大みると核にやや透明感があり、銀液による染まりがほとんどないと推察されるため、核染色によりバランスがよくなり効果的な後染となっている。写真3、4は、それぞれの成分がコントラストよく染め出され、特に細い細網線維がよく染め出され、えんじ色の膠原線維との対比がはっきりしている。また背景に銀粒子の沈着がほとんどなく、美しい染色となっている。写真5、6は膠原線維、細網線維の染め分けがみられず、区別がつかなくなっている。また核も同系色で染め出されており、全体的に染色の目的を達しているとはいえない。

鍍銀染色において、過マンガン酸カリウムによる酸化処理は最も重要な工程と考えられる。処理時間としては3分が標準とされ、参加条件(時間、温度他)により染色結果が大きく異なる。酸化が不十分だと膠原線維は黒くまた背景が共染する。また過酸化では繊細な細網線維は染色されない<sup>1)</sup>。

今回、各施設へ配付した未染標本は、胞巣型横紋筋肉腫の腫瘍組織で、鍍銀染色により、腫瘍細胞が細い細網線維にぶら下がった「干し柿」ないし「ぶどうの房」の比較的特徴的な組織パターンを示すものである。細網線維、膠原線維、細胞核が各々染め分けられていることが、この組織パターンを容易に認識することができ、診断の大きな助けになるものである。

## (2) 設問の回答より

### [1] 酸化条件

#### 設問1 鍍銀染色の染色手順と条件

前処理液組成	0. 25% 過マンガン酸カリウム水溶液 8分	1施設
	0. 3% 過マンガン酸カリウム水溶液 5分	1施設
	0. 4% 過マンガン酸カリウム水溶液 8分	1施設
	0. 5% 過マンガン酸カリウム水溶液	32施設
	1. 5分	1施設
	3分	16施設
	4分	1施設
	5分	12施設
	7分	1施設
	10分	2施設
	0. 5% 過ヨウ素酸水溶液	5施設
	2~3分	1施設
	3分	2施設
	5分	1施設
	10分	1施設
	1. 0% 過ヨウ素酸水溶液 3分	1施設

前処理なしに切片をアンモニア銀液に浸すと染色の選択性が悪い。そこで、選択性をもたせるために過マンガン酸カリウムで切片を酸化処理するが、この酸化処理には2つの効果があるものと考えられる。1つは背景のタンパク質を部分的に酸化分解し線維を浮出させる効果<sup>3)</sup>であり、もう1つは細網線維の構成成分の一部である糖のグリコールを酸化してアルデヒドにし<sup>4)</sup>、このアルデヒドが銀イオンを還元して金属銀の微粒子を生成することである。畠山ら<sup>5)</sup>は酸化剤として過マンガン酸カリウムの代わりに酸化力の穏やかな過ヨウ素酸の使用を推奨している。過ヨウ素酸では、糖グリコールの酸化がアルデヒドで止まり還元性が保たれ、また背景タンパク質の酸化分解も穏やかなので、酸化時間が多少長くても染色結果は安定していると考えられる<sup>2)</sup>。溶液

の酸化力または還元力の強さを表す酸化還元電位をみると、過マンガン酸カリウムは $E_e = +1.51$ 、過ヨウ素酸は $E_e = +1.2$ となっていて、同濃度の溶液で過ヨウ素酸の方が酸化力が若干弱い。ただし、酸化処理時間については、水質、液温等により影響を受けるので、それぞれの施設での検討が必要と思われる。

## [2] 銀液の処方

銀液の処方は、大きく渡辺の処方とNF処方があり、施設によってはこの2法それぞれ処方を変更したもの、ゼラチン、アルブミンを加えている施設もあった。

### 設問1 使用銀液

処 方	施設数
NF処方（変更処方を含む）	3施設
NF処方ゼラチン加	2施設
NF処方アルブミン加	1施設
渡辺の処方（変更処方を含む）	21施設
渡辺の処方ゼラチン加	7施設
市販既製染色液（渡辺の処方）	7施設
未記入	1施設

## [3] 年間染色数と評価

染色する機会の多い特殊染色は、その都度染色態度の確認と微調整の繰り返しが頻繁に行われ、より良い染色結果が得られるものと思われる。また、酸化液の状態も把握しやすく、更には安定した銀液の調整も可能となるとと思われる。

### 設問3 鍍銀染色の年間染色枚数

年間染色数	施設数	各評価施設数
1～5枚	14施設	(A: 2 B: 6 C: 1 D: 5)
6～10枚	7施設	(A: 2 B: 1 C: 3 D: 1)
11～20枚	5施設	(A: 1 B: 3 C: 0 D: 2)
21枚以上	15施設	(A: 13 B: 2 C: 0 D: 0)
未記入	1施設	(A: 0 B: 1 C: 0 D: 0)

上記の結果により、年間21枚以上の施設はD評価、更にC評価も無く、染色数が多いほど評価の高い染色がされていることが明らかとなった。しかし、年間1～5枚の施設で半数以上が「染色上、目的に達している」ことから、施設内で染色条件の検討が十分なされていると思わ

れた。特殊染色において染色枚数の少ない状況で、安定した染色態度を得るのは困難で、酸化液をその都度調整したり、硝酸銀水溶液の保存、冷所保存液の室温化等、染色結果に大きく影響するところで十分注意を払う必要があると思われる。

#### [4] コントロール標本

組織標本の特殊染色を行う場合、その目的となる組織成分が染色により染め出されているか、また内部精度管理の立場からみてもコントロール標本を同時に染色することは意義が大きい。日常鍍銀染色がオーダーされる検体は、肝臓、リンパ節、脾臓、骨髄、軟部腫瘍などであろうと思われる。正常リンパ節は濾胞内の細網線維が乏しいため、肝臓、脾臓を選択すればコントロール標本として使用できると考えられる。

設問 5 対象標本同時染色の有無、設問 6 対象標本の組織名

必ず用いる	7 施設	(肝臓：6 肝臓・脾臓：1)
症例によって用いる	4 施設	(肝臓：2 脾臓：1 腎臓：1)
用いていない	30 施設	
未記入	1 施設	

#### [5] 鍍銀染色上の問題点

染色に関する問題点としては、染色態度の不安定、細部の染まりの悪さ、切片の剥離、切片の厚さ、バックグラウンドの汚れ、その他にも、廃液処理、コスト等が回答としてあげられていた。

#### [6] 日臨技標準法

設問 1 1 日臨技標準法を知っているか否か、設問 1 2 日臨技標準法の経験の有無

設問 1 3 今後の日臨技標準法の採用の有無

標準法		標準法の経験		採用の有無	
知っている	8 施設	ある	2 施設	思わない	2 施設
			6 施設	思う	4 施設
				思わない	2 施設
知らない	34 施設			思う	16 施設
				思わない	17 施設
				未記入	1 施設

### (3) 考察

鍍銀染色は、酸化、銀液の調整、温度、染色時間など種々の条件により染色態度に大きく影響し、安定した結果を得るためには各施設において条件の検討が必要に思われる。最初の酸化処理条件で最終的な染色態度がほぼ決まって決まってしまうため、各種色素を順に染めては顕微鏡で確認して分別、再染を行う他の特殊染色に比較して、個々の工程における手技の単一化が安定した染色結果を得るための第一歩と思われる。筆者の施設においても、数年前に特殊染色の総合的な見直しを行った際には、各々の特殊染色の問題点を、担当技師それぞれの意見や個人的な工夫を明らかにし、数種の条件から最適なものを選択していく、という作業を繰り返して一応の目処をつけることができた。特に銀系の染色においては、そのときに入手できた各種コーティンググラスの検討をはじめ、硝酸銀液の保存、技師個人単位での銀液作成手順の単一化などを行い、マニュアル化に成功、現在この手順書に沿って染色することで安定した染色態度を得ている。

しかし、自施設内での標準化は、少なからず間違った方向へ行ってしまう危険性があるため、関連団体主催の精度管理事業に積極的に参加し、他施設の工夫や問題点を知ること、染色結果の向上、安定化に役立てて行きたいと考える。

### (5) 最後に

今回精度管理事業に参加していただいた施設に感謝いたします。

また、不手際等の御指摘を、今後の精度管理事業に生かしていきたいと思っております。

### 参考文献

- 1) 藤田 尚男, 他: 標準組織学総論第2版. 医学書院, p127-, 1981
- 2) 渡辺 明朗, 他: 好銀性線維鍍銀染色 (渡辺変法). Medical Technology Vol. 26 No. 11, p1235-, 1998. 10
- 3) 岩垂 司, 他: 銀染色のやさしい理論と染色法. Medical Technology, 11:1191, 1983
- 4) Grizzle, W.: Theory and Practice of Silver Staining., J. Histotechnology. 19:183, 1996.
- 5) 畠山重春, 他: 過ヨウ素酸酸化による細網線維鍍銀染色の検討. 病理技術, 43:5, 1991



病理部門のフォトグラフィ

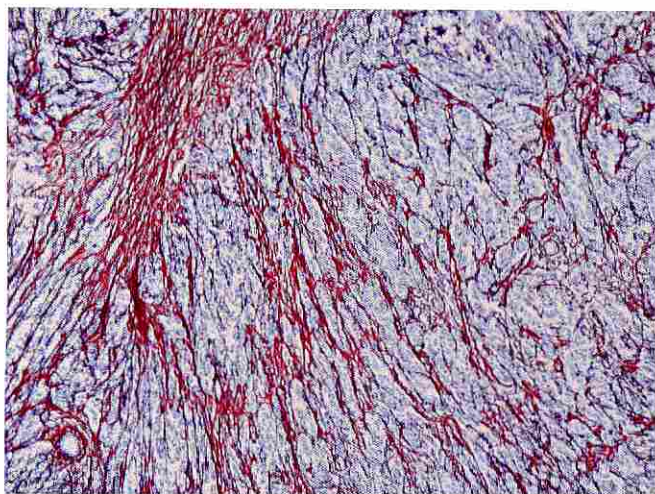


写真 1

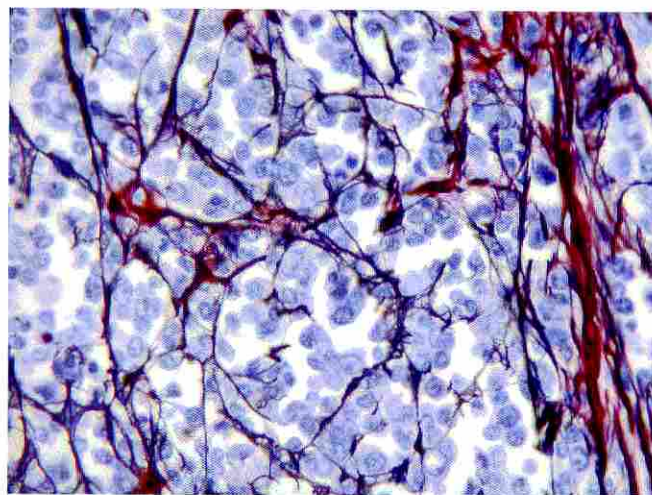


写真 2

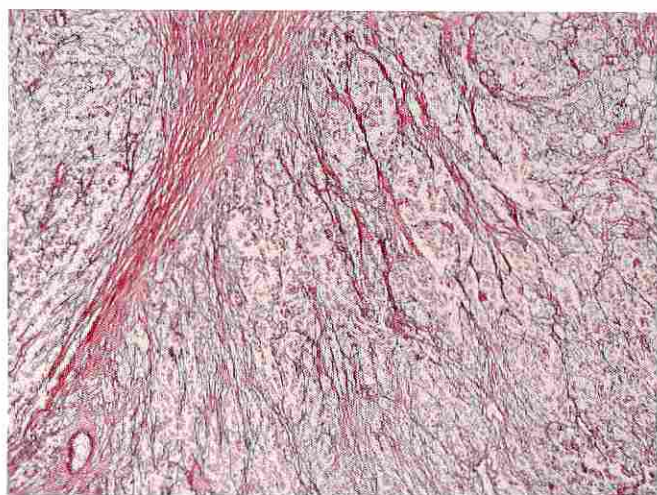


写真 3

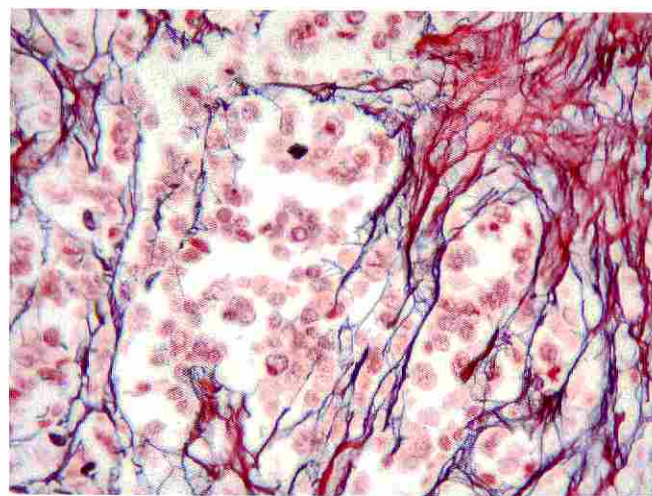


写真 4

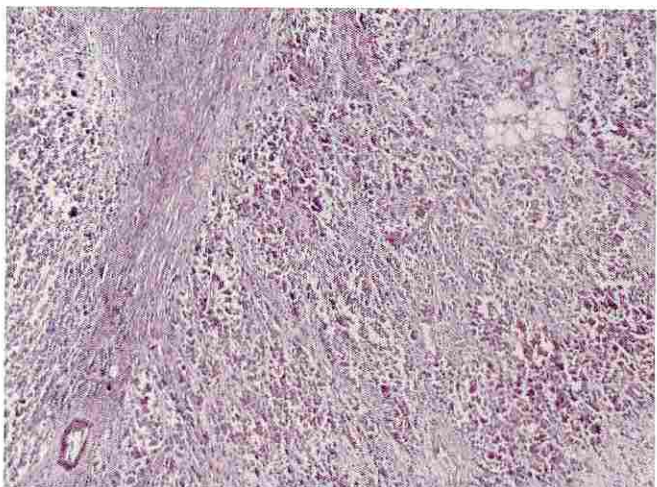


写真 5

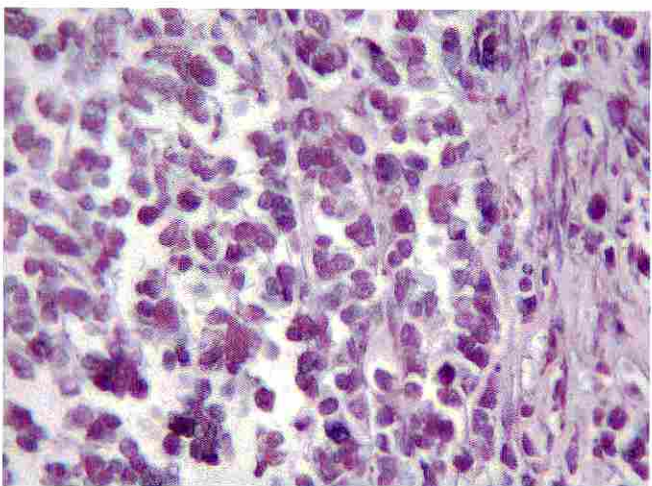


写真 6

## 平成14年度精度管理事業委員会

委員長（副会長）	永島 昇	東海産業医療団中央病院
事務局長（情報）	平井 信弘	愛知医大メディカルクリニック
IT担当（情報）	岡田 光義	株式会社テソー健康管理部
微生物	内藤 淳	厚生連更生病院
免疫血清	進士 都	社会保険中京病院
血液	牧 俊哉	名古屋第一赤十字病院
臨床化学	藤田 孝	藤田保健衛生大学病院
病理	滝野 寿	名古屋市立大学医学部
細胞	角屋 雅路	知多市民病院
生理	中井 規隆	中部労災病院
一般検査	川添 三千男	厚生連海南病院
輸血	丹羽 玲子	愛知医科大学附属病院
遺伝子	北原 公明	藤田保健衛生大学病院
學術部長	松本 祐之	名古屋大学医学部附属病院
会長	荻津 直通	藤田保健衛生大学短期大学

## 平成14年度精度管理実務委員

微生物	多和田行男	国立名古屋病院
	榎山 弘	半田市医師会健康管理センター
免疫血清	久田 順	常滑市民病院
	加藤 覚	半田市医師会健康管理センター
血液	椎野 由裕	藤田保健衛生大学病院
	今井 正人	愛知医科大学附属病院
	朝日 慈津子	中部労災病院
臨床化学	山田 幸司	厚生連加茂病院
	小池 史泰	名古屋市立大学病院
	佐野 俊一	愛知医科大学附属病院
	佐藤 美穂	岡崎市医師会公衆衛生センター
	加藤 隆正	豊田地域医療センター
	蔵前 仁	刈谷総合病院
	竹内 基	社会保険中京病院
	赤塚 道子	藤田保健衛生大学病院
病理	加藤 浩	春日井市民病院
	富貴田 誠一	小牧市民病院
	山本 司	豊橋市民病院
細胞	郡司 昌治	名古屋第一赤十字病院
	佐藤 茂	名古屋市立大学病院
	今井 律子	東海市民病院
生理	堀出 剛	名古屋掖済会病院
	伊藤 理恵子	名古屋大学医学部附属病院
一般検査	平田 基裕	医療法人 青山病院
	遠藤けい子	国立療養所東尾張病院
	野村 昌代	藤田保健衛生大学病院
	加藤 秀樹	名古屋第一赤十字病院
	包原 久志	碧南市民病院
	滝 賢一	愛知医科大学附属病院
輸血	左右田春美	医療法人豊田会刈谷総合病院
	谷川美佳子	愛知県赤十字血液センター

ご協力団体・会社名

(順不同、敬称略)

愛知県赤十字血液センター	日水製薬株式会社
株式会社シノテスト	第一化学薬品株式会社
ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社	株式会社セロテック
株式会社ダイアヤトロン	極東製薬工業株式会社
デンカ生研株式会社	協和メデックス株式会社
三光純薬株式会社	栄研化学株式会社
関東化学株式会社	シスメックス
富士レビオ株式会社	株式会社カイノス
東ソー株式会社	株式会社医学生物学研究所
デイドベーリング株式会社	和光純薬工業株式会社
ニッポーメディカル株式会社	栄研器材
オリンパス光学	株式会社スズケン
株式会社アズウェル	
オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス株式会社	

平成15年1月発行

発行者	荻津直通
編集者	永島 昇・平井 信弘
発行所	名古屋市中村区名駅5-16-17花車ビル南館1階 (社)愛知県臨床衛生検査技師会
印刷所	名古屋市千種区千種3丁目33-11 山菊印刷株式会社