

# 病 理 部 門

## 精度管理事業部員

富貴田 誠一

小牧市民病院

TEL 0568-76-4131

## 実務担当者

小熊 孔明 名古屋記念病院

柴田 伸一 岡崎医師会公衆衛生センター

# 病理検査の精度管理調査

## 【はじめに】

アルシアンブルー染色は、生体に存在する酸性粘液物質を検出する方法として、広く用いられている。酸性ムコ多糖類は間葉性粘液多糖類、上皮性粘液多糖類に分かれる。前者は結合組織に含まれるヒアルロン酸と、軟骨気質に含まれているコンドロイチン硫酸、肥満細胞の含むヘパリンであり、後者はムコイチン硫酸であるといわれている。これらはアルシアン青染色により検出され中性ムコ多糖類と鑑別される。

今回は具体的な多糖類の鑑別をすることにより自施設の染色性の良、不良をを浮き彫りにするとともに、優れた染色性を示した施設の方法を紹介し情報を提供することを目的として調査を行った。

## 【材料と方法】

### (1) 参加施設

病理検査の精度管理調査申し込み施設は54施設あった。参加各施設に未染標本を2枚送付し、自施設にて染色を実施し、1枚を提出してもらった。また同時に染色手順に関する調査票（アンケート）も提出して貰った。

### (2) 材料

手術材料の肺腫瘍組織。40歳、女性 気管分岐部 腺様嚢胞癌。10%ホルマリン固定後パラフィン包埋、4 $\mu$ mの厚さで薄切した未染標本（白色の未コーティングスライドを使用）

### (3) 評価方法

精度管理委員および病理検査研究班班員18名により、各施設名を伏せた状態で鏡検を行い、アルシアン青染色判定ポイントを設けて評価を行った。

評価は、事前に精度管理委員が参加標本の中から推奨する染色態度を示す施設の標本を各評価委員に提示し、評価判定ポイントの統一化を図った。

アルシアン青染色判定ポイント

1. 染色むら（有・無）
2. 共染（有・無）
3. アルシアンブルーの染色性（濃・適当・薄）

4. 核の染色性（濃・適当・薄）
5. 背景の汚れ（有・無）
6. その他気がついた内容について記載して貰った

#### 判定の点数配分

班員の1人が各々評価を行い、その後施設ごとに個々の班員の点数を加算して点数を求めた。

「染色むら、共染、背景の汚れについて」

“有り” 0点、“無”のものは-1点。

「アルシアン青の染色性、および核の染色性について」

“濃い”は1点、“薄い”は-1点、“適当”は0点。

例えば、18人班員がアルシアン青の染色性について5人が濃い、10人が適当、3人が薄いと意見が割れて、評価をしたとする。この場合、5点、0点、-3点となり、合計すると2点（濃い）という点数になる。これは適当と評価される標本に対して2点のリスクを背負った事になる。よって、負の加算と考えねばならず、評価としては-2点と考えることにした。

#### 総合判定

- A：「染色上、目的を十分に達しており、非常に美しい」・・・ 0点～-5点
- B：「染色上目的を達している」・・・ -6点～-20点
- C：「染色上目的を達しているが、更なる向上が望まれる」・・・ -21点～-50点
- D：「染色上、目的を達しておらず、診断に支障が考えられる」・・・ -51点～-90点
- E：「標本未提出、判定不能」

#### （4）設問

アルシアンブルー染色の手順、条件に関する13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 染色手順

設問2 年間のアルシアンブルー染色数

設問3 固定液の濃度と種類

設問4 対象標本同時染色の有無

設問5 対象標本の組織名

設問6 アルシアンブルー染色に対する満足度

設問7 アルシアン青（8GX）の発売中止を知っているか。

設問8 アルシアン青（8GX）が入手できなくなったときの対応

設問 9 染色した技師の経験年数

設問 10 アルシアンブルー染色に対する問題点

設問 11 アルシアンブルー染色に対する意見等

設問 12 サーベイについて意見・希望

設問 13 今後、病理検査の精度管理事業で実施して欲しい染色名

## 【結 果】

参加申し込みがあった 54 施設中、標本提出施設が 50 施設、アンケート提出施設が 51 施設であった。（項目により未記入のものがあり、調査対象から除外されたものも含む）

## 【染色標本の評価】

総合判定の結果を以下に記載する。

評価	A	B	C	D
施設数	13	25	7	0

今回、診断が困難と思われる標本はなかった。アルシアンブルー陽性物質、細胞核共に良く染色され、アルシアンブルー染色の目的を十分果たしていた。全体的に見てもアルシアン青染色の満たすべき条件、酸性ムコ多糖類、核染色の染め分けが出来、診断に満足しうる標本が多くを占めた。しかし、アルシアン青の評価はそれのみならず染色むら、共染、背景の汚れも重要なポイントになるために、それにより評価が低くなる施設も見られた。評価の結果によって染色方法に違いはなく、また、アルシアン青染色液の種類も自家製・市販製により評価の良悪は認められなかった。更に望ましい標本にするために 26 施設に対し以下の内容を含んだコメントを追記した。

核染が濃い印象（写真 1）… 8 施設

核染が薄い印象（写真 2）… 2 施設

背景の汚れが目立つ（写真 3）… 5 施設

アルシアンブルーの染まりが薄い印象（写真 4）… 5 施設

アルシアンブルーの染まりが強い印象（写真 5）… 4 施設

その他… 2 施設

今回評価の中で、最も評価の高かった施設の染色手技を以下に示す。

<評価の高かった施設法>（写真 6）

1. 脱パラ、水洗
2. 前処理 3%酢酸水 2分
3. 染色 1%アルシアンブルー 60分  
     1%アルシアンブルー8GS 3%酢酸水溶液 (pH調整なし)  
     30分程度攪拌、濾過後使用 (冷蔵保存)
4. 洗浄 3%酢酸水 (染色液の乗り具合を確認しながら)
5. 水洗 5分
6. 後染色 ケルンエヒテロート 5分  
     0.1%ケルンエヒテロート5%硫酸アルミニウム水溶液
7. 水洗 1分
8. 脱水・透徹・封入

## 【設問の解答より】

### 設問1 染色手順

#### 前処理液

時間 (1～5分) は多少違うが、ほとんどの施設が3%酢酸水を使用している。

組成	時間	施設数
3%酢酸水	5分	21施設
	3～5分	1施設
	3分	19施設
	2分	3施設
	1分	3施設
	なじむ程度	1施設
	不明	1施設
1%酢酸水	5分	1施設
未記入		2施設 (1施設は前処理をしていない)

#### 染色液

ほとんどの施設が1%アルシアンブルーを使用しているが、染色時間が10分～120分と差がある。

組成	時間	施設数
3%アルシアンブルー	30分	2施設
1%アルシアンブルー	120分	1施設
	90分	1施設
	60分	5施設
	40分	1施設
	30分	20施設

	20分	1施設
	10分	1施設
未記入		7施設
不明		6施設

自家染色液使用は 32 施設、そのうち pH調整しているのは 7 施設である。既製品である武藤化学薬品製を利用している施設は 16 施設見られた。

また、A評価と受けた 18 施設中既製品を使用している施設は 7 施設 (39%)、C 評価と判定された施設では 7 施設中 3 施設 (42%) であり、決して既製品が優れているとか、劣っているなどの差が見られなかった

### 洗浄

時間 (数秒～15分) は多少違うが、多くの施設が 3%酢酸水を使用している

組成	時間	施設数
3%酢酸水	5分×3回	1施設
	10分	1施設
	6分	2施設
	5分	1施設
	3分	10施設
	2分	1施設
	1分	7施設
	0.5分	4施設
	0.2分	1施設
	0.1分	1施設
	確認しながら	1施設
	なじむ程度	1施設
	5回	1施設
	10秒	1施設
3～5分	1施設	
不明	1施設	
1%酢酸水	1分	2施設
未記入		7施設
不明		8施設

### 後染色

組成	時間	施設数
NFR	2分	3施設
ケルンエヒトロート	15分	1施設
	10分	8施設
	5分	17施設
	4分	1施設
	3分	3施設
	2分	11施設
	1分	2施設

ヘマトキシリン	2分	2施設
	1分	1施設
	0.75分	1施設
未記入		1施設
不明		1施設

核をヘマトキシリンで染色している施設が4施設あった。視覚的にアルシアン青の青色とケルンエヒテロートの赤との対比は美しいものがあり、見る者の目を引く要因となることは周知の如くである。これに比べヘマトキシリンの青紫とアルシアン青との対比では同系色の対比になる為、インパクトの薄い印象にならざるを得ない。また、アルシアン青の染色性が薄く感じられたり、核の染色性が濃く感じられる傾向がある事を染色時に念頭におく必要があると思われる。ケルンエヒテロートは調整後再結晶化が起こり、長期保存が利かなく、利用頻度も少ない。再結晶化が起きたら加温にて溶解後再度、利用すれば問題なく利用可能ではあるものの、ルーチンワークで業務の簡略を図るにはヘマトキシリンの使用も容認すべき事であろう。診断自体には影響がなく、さほど問題はないものとする。

#### 設問2 年間アルシアンブルー染色枚数

アルシアン青染色は日頃ルーチンワークで行われる染色方法である。年間の染色枚数は以下の如く平均数十枚である。年間染色枚数が多い施設、つまり染色に慣れた施設が高評価を受けているかを調べたところ以下のように分散されており、一概に染色に慣れている所が有利であったとは考えられなかった。

年間染色枚数	1～5	6～10	10～25	25～50	50～75	75～100	100以上
施設数	14	7	9	10	1	3	6
A評価施設数	6	1	3	3	0	2	3

#### 設問3 固定液の濃度と種類

枚数	施設数
ホルマリン	43施設
緩衝ホルマリン	4施設
マスクドホルム	2施設
エタノール	2施設

#### 設問4, 5 コントロール標本を用いるか

通常、病理組織染色をする場合、目的とする物質が染色によって染め出されているか、また染色液の充実度を知るために、コントロールを置く事が望ましい。今回のサーベイ調査の結果、アルシアンブルー染色においてコントロール標本と一緒に染色している施設は以下の通りであった。コントロール標本は目的とする物質が陰性であったときに効果を発揮する。手技によるものや、

染色液の劣化による誤陰性なのか、該当組織内の物質が別の物質なのかを確認するときには有効である。

	施設数	主な臓器
用いていない	33 施設	
必ず用いる	10 施設	大腸、小腸、胃、気管支 腺
症例によって用いる	8 施設	大腸、小腸、胃、気管支 腺

設問 6 今回のアルシアンブルー染色標本の染色結果に満足しているか

今回染色した標本の染色結果に対する満足度を以下に示した。(有効回答のみ利用)

枚数	施設数	A 評価	B 評価	C 評価	D 評価
満足している	19 施設	8	9	2	0
どちらとも言えない	23 施設	8	11	4	0
やや不満	6 施設	2	3	1	0
不満	1 施設	0	1	0	0

この結果を見る限りでは A 評価と受けた施設でも 8 施設 (50%) のみが満足している結果であり、必ずしも満足しているとは限らなかった。また C 評価と受けた施設の 2 施設 (28%) においても満足した結果が得られたという回答を受けている。このことは必ずしも染色結果と評価が関連したものではないことを示していると考えられる。このことは染色者自身が染色度の評価に判定する基準が不明瞭であることを浮き彫りにした内容である。今後愛知県標準化協議会病理部門において特殊染色各論の愛知県推奨法の設定を作成し、病理検査研究班のホームページなどで公開することにより、画像なども掲示すべきであろうと考える。

設問 7, 8 アルシアン青 (8GX) が発癌の問題により発売中止されているのを知っていますか?

知っている…25 施設

知らない…26 施設

今後それが入手出来なくなったらときの対応

- ・アストラブルー、アルシアングリーン、ムチカルミン染色などに変更 (4 施設)
- ・現在検討中 (2 施設)
- ・まだ検討していない (4 施設)
- ・市販品を使用する (16 施設)
- ・年間染色件数が、現在のところ前記程度の件数なので、殆ど問題がないと思われます (1 施設)
- ・アルシアンブルーを買いだめしました (1 施設) 他



自家製染色を行っている施設にとってアルシアン青（8GX）が今後入手困難になると、今後の対応を考えねばならない。既製品は当面の期間は供給可能とのことである。自家製の場合はアルシアンイエローGXS、アルシアングリーン2GX等の今後の更なる検討を行うことが必要であろう。

#### 設問9 染色をした技師の病理経験年数

経験年数に関しても調査を行った。A評価施設 18 施設の平均経験年齢年齢は 11.8 年である。それ以外の施設の平均経験年齢年齢は 10.3 年であった。以上のことからすると必ずしも経験者が有利であったとは考えにくく、総合判定の結果とは相関しなかった。また今回実際に染色を行ってA評価のなかでも高評価を得た2施設の経験年数は5年と1.5年であった。

### 【考察】

病理組織染色は化学系のように数値を扱う分野と異なり、病理検査では標準化や精度管理が困難な部門である。その背景として、組織標本は作成者の技量や鏡見者の好み等、技術的あるいは主観的要素が大きく影響していると思われる。

今回行ったアルシアン青染色のアンケートを見る限りでは他の染色方法と比較して、染色方法、あるいは染色液の選択により大きな違いが認められなかった。また、染色枚数の多い所や染色経験が長い人が必ずしもA評価を受けたわけでもなかった。このことは今まで言われていた作成者の技量、技術が必ずしも反映された結果とはならなかった事を意味しているのではないだろうか。

結果的に今回の調査対象として、染色液の交換時期や、アルシアン青の製造元（販売会社）にまで調査対象がされなかったことが残念なところであり、反省材料であるとも考える。

染色は主観的要素が大きく影響するため、いずれの施設においても全く同様な染め上がりを目指す標準化は不可能であると考え。染色後の染色の満足度と評価とは相関しない結果が今回改めて浮き彫りになった。またアンケート調査にもA評価と受けた施設でさえ、不安材料で悩んでいる事がわかった。このことは標本作成における遵守事項、見本となる染色度合いを各工程において明確にし、試薬管理、操作マニュアルなどの集約が必要であることを考えさせる結果であった。そのためには愛知県標準化協議会病理部門において特殊染色各論の愛知県推奨法の設定を作成し、病理検査研究班のホームページなどで公開していくことが望まれる。

今回実施したアルシアン青染色では、多少の染色性の違いはあるが、アルシアン青染色の目的を十分果たしており、診断が困難な標本はなく、指導対象施設もなかった。核染色においてヘマトキシリンを使用した施設が見られたが、診断に差し支えるとは考えられない。また、業務の簡略化を考えれば容認出来ることであろう。

最後に、今回この精度管理事業により、明確になった事項が多々あった。このことを踏まえ精度管理事業に貢献していきたいと考える。参加協力施設など関係者に感謝します。

## 病理検査アルシアン青染色サーベイの評価結果

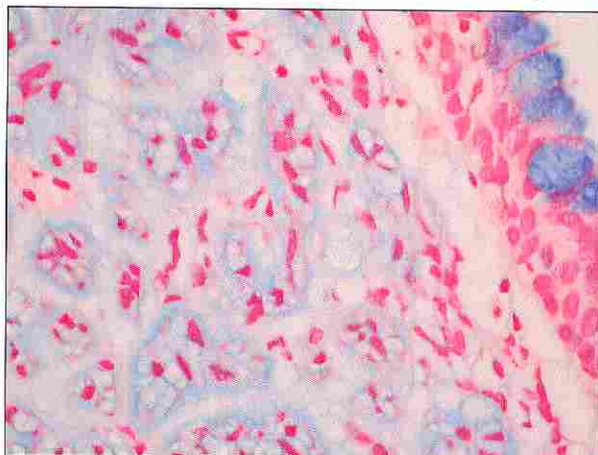


写真1 核染が濃い

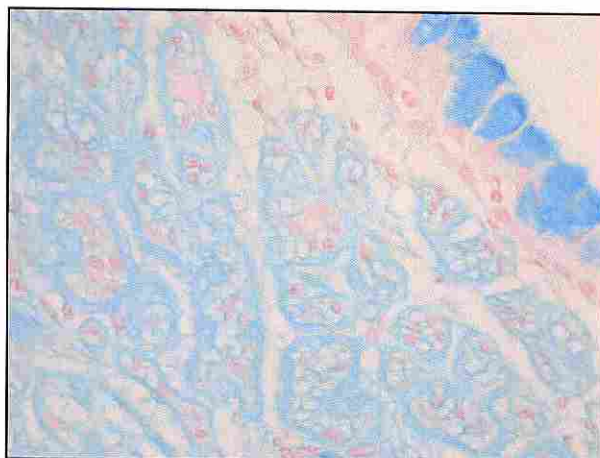


写真2 核染が薄い

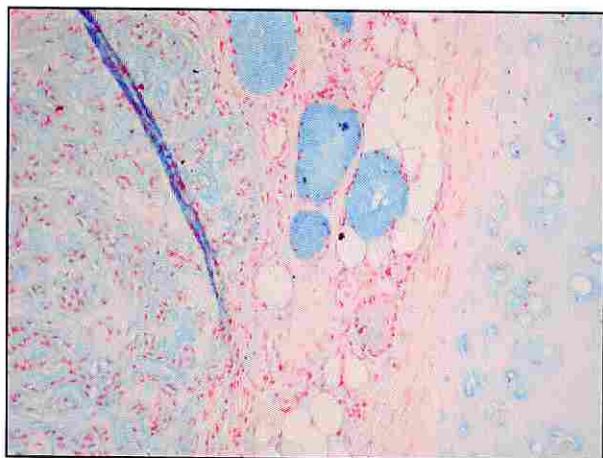


写真3 背景の汚れが目立つ



写真4 アルシアンブルーの染まりが弱い

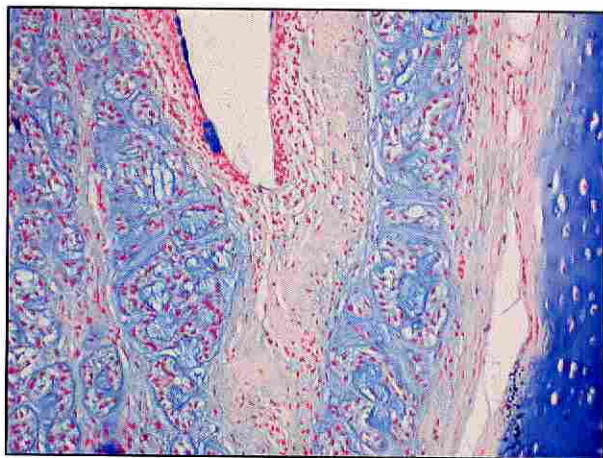


写真5 アルシアンブルーの染まりが強

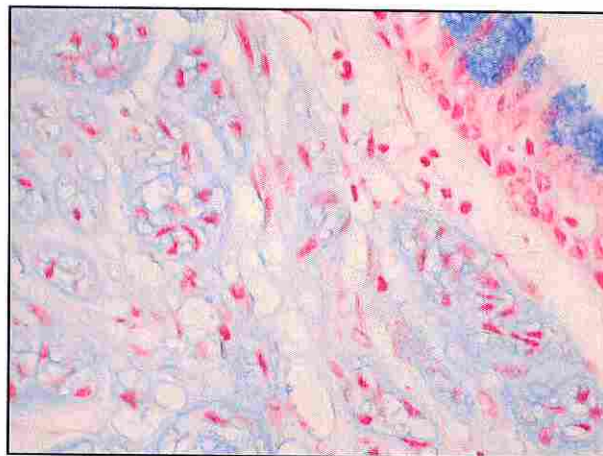


写真6 評価の高かった施設

## 平成15年度精度管理事業部

部 長	平井 信弘	愛知医大メディカルクリニック
事務局（情報）	岡田 光義	株式会社デンソー健康管理部
微生物	榎山 弘	半田医師会健康管理センター
免疫血清	平松久美子	名古屋市立大学病院
血液	内山 雅宇	国立名古屋病院
臨床化学	加藤 隆正	豊田地域医療センター
病理	富貴田誠一	小牧市民病院
細胞	南谷 健吾	名古屋記念病院
生理	高須賀広久	藤田保健衛生大学病院
一般検査	包原 久志	碧南市民病院
輸 血	谷川美佳子	愛知県赤十字血液センター
会 長	荻津 直通	藤田保健衛生大学短期大学
副会長	松本 祐之	名古屋大学医学部附属病院
学術部長	桑原 正喜	あいち小児保健医療総合センター
理事	榊原 勝	名古屋記念病院
理事	久保田勝俊	厚生連知多厚生病院

## 平成15年度精度管理実務担当者

微生物 免疫血清	内藤 淳	厚生連安城更生病院	
	亀井 仁美	厚生連安城更生病院	
血液 臨床化学	進士 都	社会保険中京病院	
	清水 宏伸	愛知医科大学附属病院	
	山田 孝司	厚生連加茂病院	
	蔵前 仁	刈谷総合病院	
	竹内 基	社会保険中京病院	
	田中 瑞穂	名古屋掖済会病院	
	柘植 和子	春日井市健康管理センター	
	赤塚 道子	藤田保健衛生大学病院	
	松尾 農夫	名古屋市立城西病院	
	川村 真由	厚生連安城更生病院	
	病 理	小熊 孔明	名古屋記念病院
		柴田 伸一	岡崎医師会公衆衛生センター
	細 胞	梅田 総一郎	南生協病院
大嶽 宏幸		西尾市民病院	
生 理	中井 規隆	中部労災病院	
	滝野 好美	豊川市民病院	
一般検査	平田 基裕	青山病院	
	川添 三千男	厚生連海南病院	
	滝 賢一	愛知医科大学附属病院	
	加藤 秀樹	名古屋第一赤十字病院	
	桜井 昌代	藤田保健衛生大学病院	
	遠藤 けい子	国立療養所東尾張病院	
	伊藤 康生	厚生連昭和病院	
	山崎 章子	半田市立半田病院	
	輸 血	丹羽 玲子	愛知医科大学附属病院
		星野 鉦二	岡崎市民病院

ご協力団体・会社名

(順不同、敬称略)

和光純薬工業株式会社	シノテスト
第一化学薬品株式会社	三光純薬(株)
協和メデックス株式会社	関東化学
アズウェル	三菱化学ヤトロン
シスメックス	アークレイ
カイノス	デイドベーリング
富士写真メディカル	デンカ生研
栄研化学	東ソー
スズケン	極東製薬
富士レビオ	アボット
ミズホメディー	三菱化学ビーシーエル
ニットウボーメディカル	日水製薬
ロシューダイアグノスチックス	
オーソクリニカルダイアグノスチックス	
愛知県赤十字血液センター	

---

平成16年2月発行

発行者 荻津 直通

編集者 平井 信弘

発行所 名古屋市千種区千種3丁目33-11  
(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