

# 2024 年度 青森県臨床検査技師会精度管理調査

## 病理検査部門 病理 精度管理報告書

病理検査部門 病理 精度管理委員  
三上 千尋（青森県立中央病院 病理部）

### I. はじめに

今年度の病理検査部門精度管理調査ではエラスチカ・ワンギーソン (Elastica van Gieson: 以下 EVG) 染色を実施した。EVG 染色は腫瘍の脈管侵襲や深達度など、多くの臓器において病態の把握に用いられる染色であり、病理診断における重要性は高い。そこで今年度は青森県内各施設の EVG 染色について染色方法および染色性調査の目的で精度管理調査を実施した。

### II. 参加施設数

13 施設

### III. 調査方法

大腸の手術材料（10%中性緩衝ホルマリンで 48 時間固定）を  $3\mu\text{m}$  に薄切した未染色標本 2 枚を各施設に配布した後、染色済み標本 2 枚を回収した。精度管理調査に関するアンケートは Google フォームより各施設に回答していただいた。

### IV. 染色原理

EVG 染色は弾性線維が紫黒色、筋線維が黄色、膠原線維が赤色に染色される。

原理としては弾性線維に含まれる蛋白質がレゾルシン・フクシンと化学結合し紫黒色を呈する。また色素粒子の大小差によってピクリン酸は筋線維や赤血球などと親和性を示し黄色に、酸フクシンは膠原線維と親和性を示し赤色に染色される。

### V. サーベイの評価

染色の評価は病理医 1 名、認定病理検査技師 3 名で判定した。評価項目は弾性線維の染色性、ピクリン酸の染色性、膠原線維の染色性、標本全体の染色性とし、以下の判定基準にしたがって点数化した。さらに各項目の合計点を用いて総合評価をした。

**【弾性線維の染色性 (3点満点)】**：血管の弾性板や粘膜筋板などの弾性線維の染色性

点数	判定	判定基準
3点	病理診断に影響なし	弾性線維が明瞭に染色されている
2点	病理診断に若干の影響はあるが判定可能	弾性線維の染色が若干弱いの確認は可能
1点	病理診断に影響を及ぼす	弾性線維の染色が弱く確認が困難、または染色されていない

**【ピクリン酸の染色性 (2点満点)】**：筋線維や赤血球の染色性

点数	判定	判定基準
2点	病理診断に影響なし	筋線維や赤血球が明瞭に染色されている
1点	病理診断に影響はないが工夫が必要	筋線維や赤血球の染色が弱い、または染色されていない

**【膠原線維の染色性 (3点満点)】**：膠原線維の染色性

点数	判定	判定基準
3点	病理診断に影響なし	膠原線維が明瞭に染色されている
2点	病理診断に影響はないが工夫が必要	膠原線維の染色が若干弱いの確認は可能
1点	病理診断に影響を及ぼす	膠原線維の染色が弱く確認が困難、または染色されていない

**【標本全体の染色性 (2点満点)】**：標本全体の染色のバランス、共染の有無など

点数	判定	判定基準
2点	病理診断に影響なし	染色のバランス（コントラスト）がよく共染がない見やすい標本
1点	病理診断に影響はないが工夫が必要	染色のバランスが不適切（コントラストが悪い）、または共染があるなどしてやや見にくい標本

**【総合評価】**

評価	点数	総合評価
A	10～9点	診断上支障のない標本、良好な染色を示す標本
B	8～6点	診断上支障のない標本だが改善の余地のある標本
C	5～3点	診断に支障の出る可能性のある標本

## VI. 結果

今年度の精度管理調査の総合評価は以下の通りである。

総合評価	A 評価		B 評価	C 評価
点数	10 点	9 点	8 点	7 点以下
施設数 (%)	7 (54%)	2 (15%)	4 (31%)	0 (0%)

A 評価のうち 10 点満点の施設は 7 施設で、弾性線維の染色性が明瞭で全体的なバランスのとれた良好な染色性であった。9 点の施設は 2 施設ありいずれも膠原線維の染色性が強く全体的な染色性のバランスで減点となった。

B 評価の施設は 4 施設であり、主に膠原線維の染色性が全体のバランスに影響を及ぼし減点となった。C 評価の施設は見られなかった。

以上より今年度の精度管理調査において概ね良好な結果ではあったが、全体の染色性のバランスがやや不適切な施設もあり染色工程や試薬の工夫が必要と考えられる。

評価項目と減点施設数は以下の表のとおりである。

評価項目	減点施設数
弾性線維の染色性	1
ピクリン酸の染色性	0
膠原線維の染色性	3
標本全体のバランス	6

精度管理参加施設に EVG 染色に関する各種アンケートを実施したので結果を以下に示す。

### 【切片の厚さ】

切片の厚さ ( $\mu\text{m}$ )	施設数
2~3	3
3~4	8
4~5	2

自施設で EVG 染色を実施する場合の切片厚は 3~4  $\mu\text{m}$  としている施設が多かった。

※今回の精度管理調査ではあらかじめ 3  $\mu\text{m}$  に薄切した標本を送付し染色していただいた。

【1週間のEVG染色の染色枚数】

染色枚数	施設数	総合判定	
1～10	9	A 評価 6 施設	B 評価 3 施設
11～25	2	A 評価 1 施設	B 評価 1 施設
26～50	2	A 評価 2 施設	B 評価 0 施設

EVG 染色の頻度に関するアンケートを実施したところ、1週間の染色枚数は1～10枚と回答した施設が多かった。染色枚数が少ない施設であってもA評価の施設が多く、各施設で染色手順等のマニュアルが整備されていると推測される。

なお通常業務でEVG染色を行っていない施設もあった（通常業務ではエラスチカン・マッソン染色を実施している施設が1件、他施設へEVG染色を委託している施設が1件。いずれの施設も枚数1～10枚と回答）。

【EVG染色の染色方法】

	施設数	総合判定	
用手法	10	A 評価 7 施設	B 評価 3 施設
機械法	3	A 評価 2 施設	B 評価 1 施設

EVG 染色の染色方法についてアンケートを実施したところ、用手法で染色している施設が多かった。機械法で実施している3施設のうち、サクラファインテックジャパン株式会社が2施設、ライカ バイオシステムズが1施設であった。

【レゾルシン・フクシン液について】

	施設数	総合判定	
市販品	13	A 評価 9 施設	B 評価 4 施設
自家調製	0		

レゾルシン・フクシン液に関するアンケートを実施したところ全施設で市販品（武藤化学株式会社）を使用していた。

【レゾルシン・フクシン液の染色時間】

染色時間（分）	施設数	総合判定	
～30	1	A 評価 1 施設	B 評価 0 施設
31～60	5	A 評価 4 施設	B 評価 1 施設
61～89	4	A 評価 1 施設	B 評価 3 施設
90～	3	A 評価 3 施設	B 評価 0 施設

レゾルシン・フクシン液の染色時間は施設によってばらつきが見られたが、31～60分、61～89分とする施設が多かった。

【レゾルシン・フクシン液の分別方法】

分別液	施設数	総合判定	
1%塩酸 70%アルコール	4	A 評価 2 施設	B 評価 2 施設
100%アルコール	9	A 評価 7 施設	B 評価 2 施設

全施設でレゾルシン・フクシン液の分別は行われていた。100%アルコールで分別している施設が多かった。

【ワンギーソン液について】

染色液	施設数	総合判定	
酸性フクシン	9	A 評価 6 施設	B 評価 3 施設
シリウス赤	4	A 評価 3 施設	B 評価 1 施設

ワンギーソン液に関するアンケートを実施したところ、酸性フクシンを使用している施設が多かった。酸性フクシンとシリウス赤では総合判定に大きな差は見られなかった。

【ワンギーソン液の染色時間】

染色時間 (分)	施設数	総合判定	
酸性フクシン	～5	A 評価 6 施設	B 評価 1 施設
	6～10	A 評価 0 施設	B 評価 2 施設
シリウス赤	6～10	A 評価 1 施設	B 評価 0 施設
	11～20	A 評価 2 施設	B 評価 1 施設

染色液の違いにより染色時間は異なっていた。

酸性フクシンを使用している施設の多くは5分以内であった。またシリウス赤を使用している施設の染色時間は酸性フクシンより長く、6～20分であった。

【鉄ヘマトキシリンについて】

染色液	施設数	総合判定	
市販品	8	A 評価 5 施設	B 評価 3 施設
自家調製	5	A 評価 4 施設	B 評価 1 施設

鉄ヘマトキシリンは市販品を使用している施設が多く、8施設すべてで武藤化学のものを使用していた。

また自家調製の施設の組成は5施設すべて同様であった（以下に組成を示す）。

I 液：ヘマトキシリン粉末 1g、95%アルコール 100mL

II 液：塩化第二鉄 2g、塩酸 1mL、蒸留水 95mL

I 液と II 液を等量混和し使用液とする。

【脈管侵襲の確認のために免疫染色 Podoplanin を併用しているか】

	併用している (免疫染色を実施している)	併用していない (免疫染色を実施していない)
施設数	11	2

脈管侵襲の確認のために通常業務で EVG 染色に Podoplanin を併用しているかアンケートを実施したところ、11 施設で併用しているとの回答だった。11 施設のうち 2 施設は他施設へ免疫染色を依頼しているとのことだった。

## Ⅶ. 考察

今回の精度管理調査では各評価項目で減点となった施設が 13 施設中 6 施設あった。

弾性線維の染色性については、1 施設で染色性がやや弱いと判定されたがその他の施設は弾性線維が明瞭に染色されており高評価であった。レゾルシン・フクシン液の染色には全施設で市販品（武藤化学）を使用しており、染色時間は施設間でバラツキがみられたが染色性に関しては大きな差は認めなかった。その後の分別に関しても 100%アルコールで分別している施設が多かったが、1%塩酸 70%アルコールで分別している施設とでは弾性線維の染色性に大きな差は認めなかった。レゾルシン・フクシン液後の分別不良によって共染が見られたり、この後工程のワンギーソン染色でピクリン酸がくすんでしまいコントラストの悪い標本になってしまうなど染色性への影響が大きいためしっかりと分別を行い次の工程に進むことが重要である。

ピクリン酸の染色性については、全施設で筋線維や赤血球が明瞭に染色されており高評価であった。

膠原線維の染色性については、染色性のやや弱い施設が 3 施設あった。3 施設中 2 施設では膠原線維の染色性が弱いため標本全体が黄色調に染まっており、染色性のバランスにおいても減点となってしまった。この 2 施設は酸性フクシンの染色時間がやや長い（6～10 分）が膠原線維の染色性は弱かった。原因としてワンギーソン液調製時の酸性フクシンとピクリン酸の混合比率による影響が最も大きいと考えられるが、その前工程のレゾルシン・フクシン液の分別による影響も少なからず関与していると考えられる。いずれの 2 施設も分別に 100%アルコールを使用していることからピクリン酸の黄色調が鮮やかに染色されず、コントラストの弱い標本になってしまった可能性も少なからず考えられる。膠原線維の染色性についてはワンギーソン液の調製方法のみならず染色時間、分別方法など様々な工程を見直し検討する必要がある。

またワンギーソン液に酸性フクシンとシリウス赤を使用している施設とでは染色性に大きな差が見られた。シリウス赤を使用している施設は酸性フクシンを使用の施設よりも膠原線維がより明瞭に染色されているが標本全体で見るとやや赤色調が強いと感じた。しかし総合判定には大きな差は見られなかった。シリウス赤はピクリン酸と分子量が大きく異なり染色の選択性が良好になるため膠原線維がより明瞭に染まる。また退色しにくいという

特徴もあるため、膠原線維の染色性をより明瞭にしたい施設はシリウス赤の使用を検討する価値はあると考える。

今回の精度管理調査では、各種線維（弾性線維、筋線維、膠原線維）の染め分けはされていたが、標本全体の染色性のバランスで減点された施設が多かった。

EVG 染色は腫瘍の深達度の確認だけではなく血管性病変や線維性病変など様々な疾患で用いられる染色である。各種線維を明確に染め分けすることは基本であり、加えて病理医が判定しやすい染色性のバランスを考慮できればなお望ましいと考える。

## **VIII. まとめ**

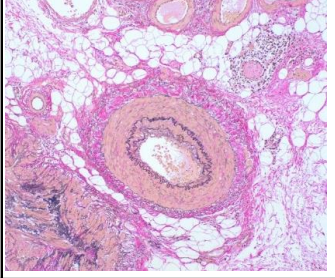
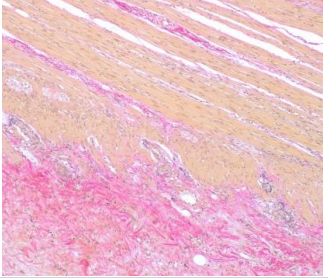
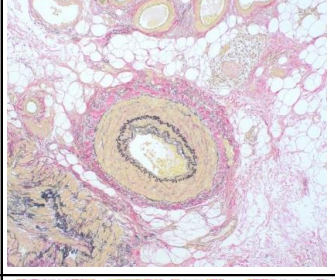
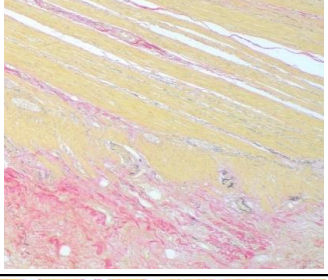
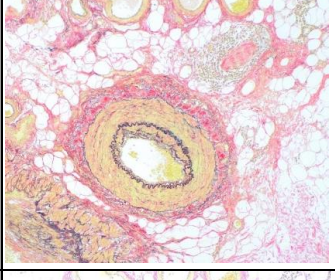
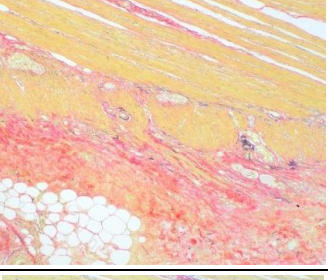
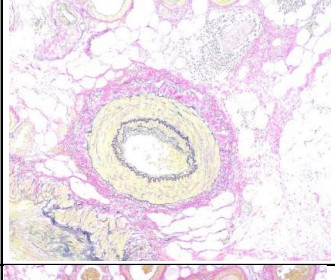
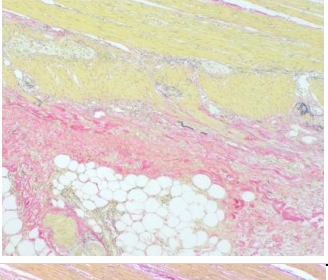
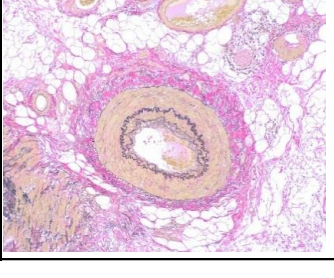
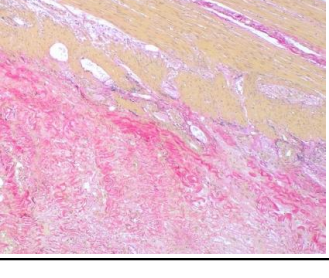
今回の精度管理調査では、A 評価の施設は 9 施設、B 評価の施設は 4 施設、C 評価の施設は見られず概ね良好な結果があったと言える。

各施設でそれぞれ好みの染色性があると思われるが、今回の精度管理調査の結果が各施設での染色性を見直すきっかけとなれば幸いである。

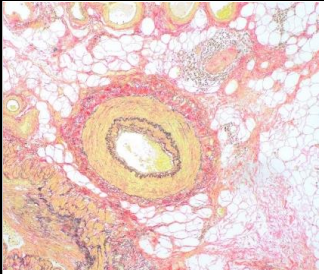
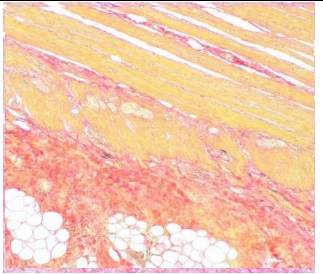
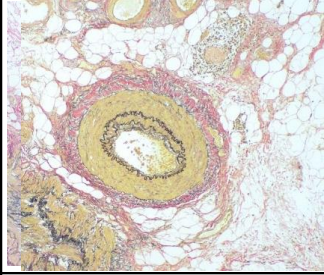
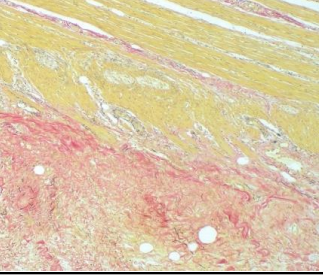
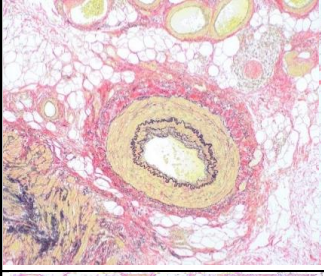
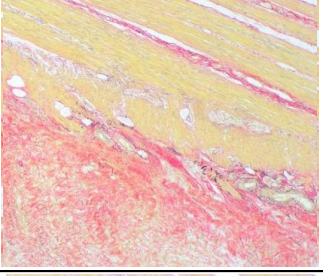
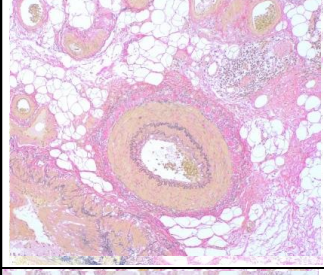
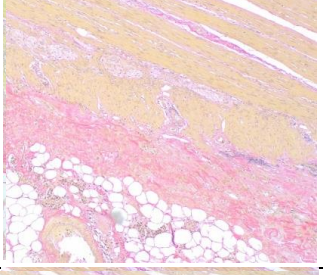
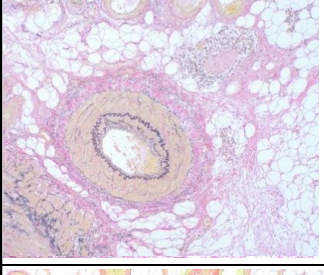
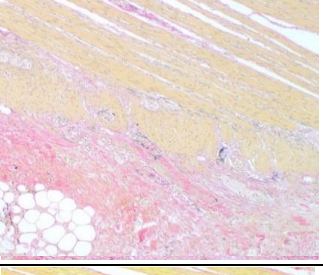
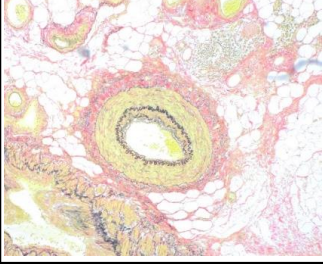
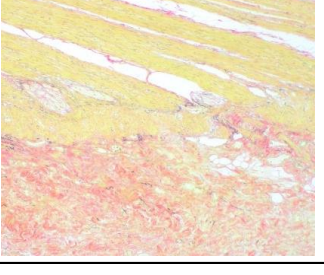
## **IX. 参考資料**

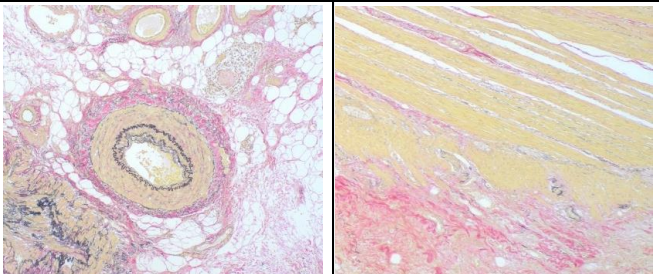
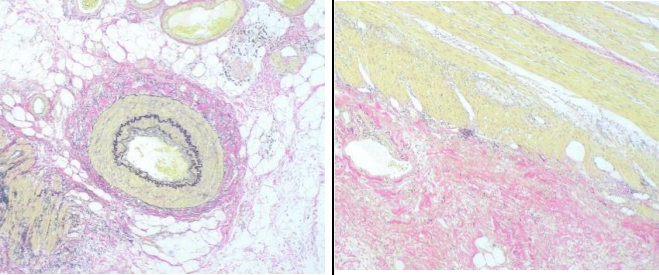
- 1) 一般社団法人 日本臨床衛生検査技師会：JAMT 技術教本シリーズ 病理検査技術教本，丸善出版，131-132，2017
- 2) 水口國雄，他：Medical Technology 別冊 最新染色法のすべて，医歯薬出版，18-20，2011
- 3) 中村広基，他：Medical Technology. Vol.41 No.6, 640-641，2013
- 4) 浅野敦，岐阜県新省検査技師会 精度保障事業部，総括集. 2011
- 5) 仲田梨恵，他：長野県臨床検査技師会 病理検査部門 精度管理調査報告書. 2023

### X. 各施設の染色性一例・総合評価の一覧

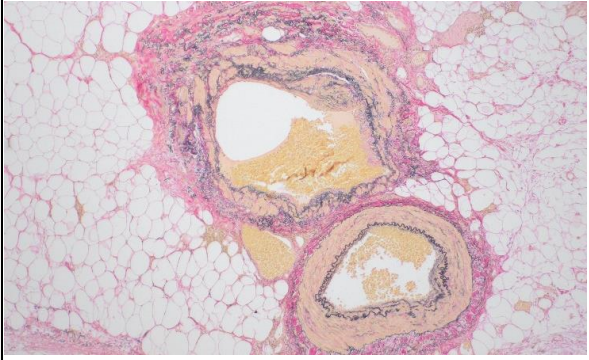
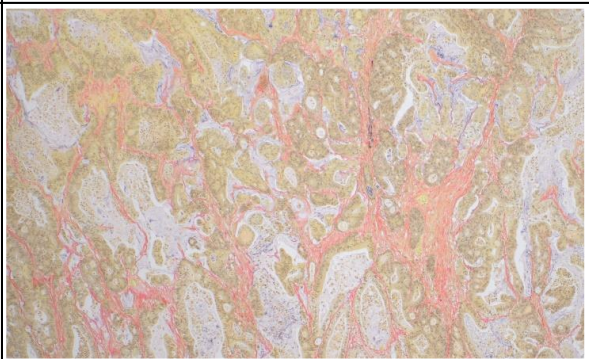
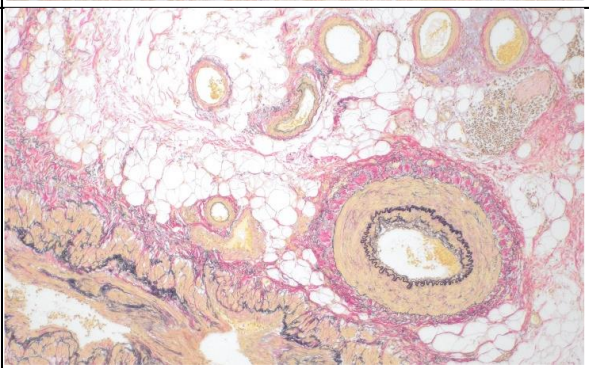
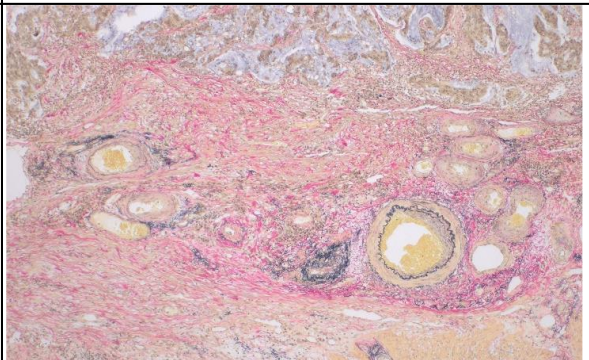
施設 コード	染色性の一例		弾性線維の 評価	ピクリン酸 の評価	膠原線維の 評価	標本全体の バランス	総合評価
1			3	2	3	1	A 9点
5			3	2	3	2	A 10点
26			3	2	3	2	A 10点
32			3	2	3	2	A 10点
34			3	2	3	2	A 10点



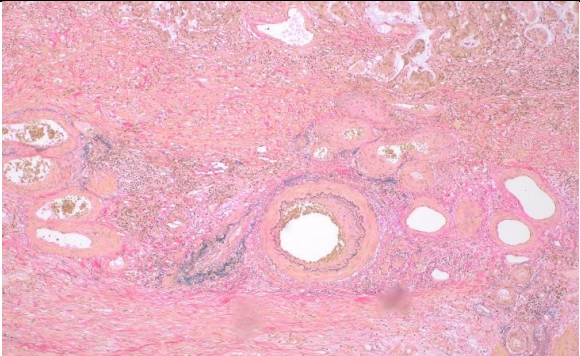
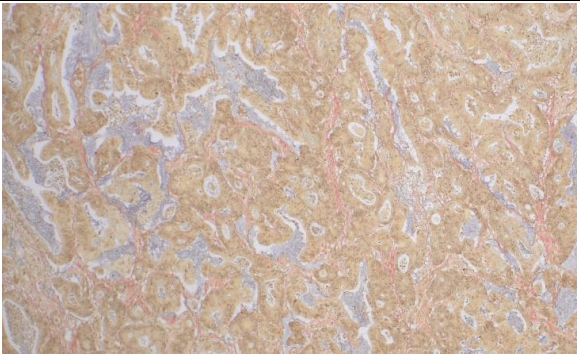
施設コード	染色性の一例		弾性線維の評価	ピクリン酸の評価	膠原線維の評価	標本全体のバランス	総合評価
44			3	2	3	1	A 9点
54			3	2	2	1	B 8点
66			3	2	3	2	A 10点
79			2	2	3	1	B 8点
89			3	2	2	1	B 8点
90			3	2	2	1	B 8点

施設 コード	染色性の一例	弾性線維の 評価	ピクリン酸 の評価	膠原線維の 評価	標本全体の バランス	総合評価
91		3	2	3	2	A 10点
92		3	2	3	2	A 10点

高評価（10点満点）であった施設の染色性

染色コード	染色性	高評価ポイント
5		<p>大血管の弾性線維が明瞭に染色されている。低倍率（×4）でも弾性線維の観察が可能である。</p>
66		<p>粘膜上皮内の膠原線維が明瞭に染色されている。コントラストも良く、低倍率（×4）でも筋線維と膠原線維の鑑別が可能である。</p>
91		<p>弾性線維、筋線維、膠原線維の染色性のバランスが良好であり観察しやすい標本である。</p>
92		<p>小血管の弾性線維が明瞭に染色されており弾性線維、筋線維、膠原線維の染色性のバランスが良好な標本である。</p>

B 評価（8 点）であった施設の染色性

染色 コード	染色性	減点ポイント
79		<p>弾性線維の染色性がやや弱く、低倍率（×4）でも認識しがたい。 また全体的に酸性フクシンの赤色調が強い。</p>
54		<p>膠原線維の染色性がやや弱く、粘膜上皮内の膠原線維が低倍率（×4）で認識しがたい。またピクリン酸の黄色調が強くコントラストがやや不明瞭。</p>

## XI. 各施設の EVG 染色工程と判定一覧

施設 コード	総合評価	染色方法	レゾルシン・ フクシン液	レゾルシン・フクシン液 の分別	ワンギーソン液	鉄ヘマト キシリン
1	A (9点)	機械法 サクラ	市販品（武藤） 31～60分	1%塩酸 70%アルコール	酸性フクシン ～5分	自家調製
5	A (10点)	用手法	市販品（武藤） 61～89分	100%アルコール	酸性フクシン ～5分	市販品（武藤）
26	A (10点)	用手法	市販品（武藤） 90分～	100%アルコール	シリウス赤 6～10分	市販品（武藤）
32	A (10点)	機械法 サクラ	市販品（武藤） ～30分	1%塩酸 70%アルコール	酸性フクシン ～5分	市販品（武藤）
34	A (10点)	用手法	市販品（武藤） 31～60分	100%アルコール	酸性フクシン ～5分	自家調製
44	A (9点)	用手法	市販品（武藤） 31～60分	100%アルコール	シリウス赤 11～20分	自家調製
54	B (8点)	用手法	市販品（武藤） 61～89分	100%アルコール	酸性フクシン 6～10分	市販品（武藤）
66	A (10点)	用手法	市販品（武藤） 31～60分	100%アルコール	シリウス赤 11～20分	自家調製
79	B (8点)	機械法 ライカ	市販品（武藤） 31～60分	100%アルコール	酸性フクシン 6～10分	自家調製
89	B (8点)	用手法	市販品（武藤） 61～89分	1%塩酸 70%アルコール	酸性フクシン ～5分	市販品（武藤）
90	B (8点)	用手法	市販品（武藤） 61～89分	1%塩酸 70%アルコール	シリウス赤 11～20分	市販品（武藤）
91	A (10点)	用手法	市販品（武藤） 90分～	100%アルコール	酸性フクシン ～5分	市販品（武藤）
92	A (10点)	用手法	市販品（武藤） 90分～	100%アルコール	酸性フクシン ～5分	市販品（武藤）