

研 究

病理組織検査のHE染色における内部精度管理方法の検討

菊地利紀, 岡田珠里亜, 浅沼まりな, 佐々木秀樹

宮城県食肉衛生検査所

ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色は病理組織検査において最も重要で一般的な染色法であるが、その染色態度に個人間差や施設間差が生じやすい。本研究では、当所の病理染色技術の平準化及び維持を目的とし、HE染色標本を用いた内部精度管理方法を検討した。精度管理基準として豚の胃底部組織を用いた肉眼評価基準および、染色条件の異なる標本から算出したHSV表色系を用いた色調評価基準を設定した。これら評価基準を用いて内部精度管理を実施した。さらに病理組織検査担当者に自身が作製した標本の評価の聞き取り調査を実施し、評価基準と比較した。その結果、本研究で設定した評価基準は病理組織検査担当者の感覚と一致していた。用いる組織によっては設定した評価基準が適さない場合も考えられるが、その他組織への応用の第一歩として有用と考えられた。

キーワード：HE染色, 色相, 精度管理, 病理

病理組織検査は、顕微鏡を通して観察した組織構造や細胞を解析することにより、病態を診断する検査である。同検査は、と畜検査時に肉眼所見のみでは診断できない腫瘍等に対して実施しており、観察目的に応じて様々な染色法が用いられる。中でもヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色は最も重要で一般的な染色法であるが、その染色態度には個人間差や施設間差が生じやすい¹⁻⁴⁾。人医療領域では様々な方法により染色態度を含めた精度管理による平準化が図られており¹⁻⁴⁾、診断精度向上に対する寄与は計り知れないと考えられている¹⁾。一方で、全国的に公務員獣医師が減少しており、本県においても、従前どおりの検査技術の維持と継続が困難になることを否定できない状況にある。そこで、本研究では、HE染色における最適な染色態度を確認するとともに当所の染色技術の平準化及び維持に寄与することを目的とし、HE染色標本を用いた内部精度管理方法を検討したのでその概要を報告する。

材料および方法

法村²⁾の報告を基に、内部精度管理に用いる検体として豚の胃底部組織を選定した。検体を10%中性緩衝ホルマリン液で固定後、常法に従い切片を作製した。

HE染色の内部精度管理方法は、既報^{2,3)}を基に肉眼評価及び色調評価によることとした。すなわち法村²⁾の報告を基に肉眼評価基準(表1)を設定し、中村³⁾の報告を参考にHSV表色系の色相値を用いた色調評価基準を設定した。

表1 胃底部組織HE染色標本における肉眼評価基準(法村²⁾の基準を改変)

評価部位	評価基準
粘膜上皮	①核が明瞭で、共染していないこと ②粘膜下部における壁細胞と主細胞が判別可能であること
血管	③赤血球と血管のコントラストが明瞭であること
平滑筋層	④平滑筋と結合組織が判別可能であること

HE染色にはマイヤーヘマトキシリン溶液（富士フィルム和光純薬株式会社，大阪市）および1%エオシンY溶液（富士フィルム和光純薬株式会社，大阪市）を使用した。染色条件の異なるHE染色標本を計36枚作製し，同標本の粘膜部を対物4倍で撮影後，画像をMicrosoft Excelに取り込み，画像全体の平均RGBを算出した。同値をHSV表色系に変換し，色相値の平均値，標準偏差（SD）及び偏差値を求め，色調評価基準の設定に用いた。

設定したこれらの評価基準を用いて，病理組織検査担当者3名を対象としたHE染色の内部精度管理を実施した。

成 績

染色条件の異なるHE染色標本36枚の平均色相値は284.6，SDは46.3であった（表2）。肉眼評価基準を満たす色調を呈した標本が基準範囲に入るよう，偏差値50±1を色調評価基準として設定した。このときの色相値の範囲は280～289であった（表3）。

設定した評価基準を用いて，病理組織検査担当者を対象とした内部精度管理を実施したところ，3名中2名が評価基準を満たした（表4）。

表2 各染色条件における色相値，偏差値，肉眼評価

No.	色相値	偏差値	肉眼評価基準			
			①	②	③	④
1	280	49.1	○	○	○	○
2	298	52.7	×	○	○	○
3	297	52.5	×	○	○	×
4	285	50.1	○	○	○	○
5	297	52.5	×	○	○	×
6	288	51.5	△	○	○	○
33	292	51.5	△	○	○	○
34	284	49.9	○	○	○	○
35	300	53.1	×	○	×	×
36	293	51.7	×	○	○	○

表3 色調評価基準

項目	平均値	標準偏差	基準範囲
色相値	284.6	46.3	280～289
偏差値	—	—	50±1

表4 内部精度管理結果

担当者	色相値	偏差値	色調評価基準	肉眼評価基準			
				①	②	③	④
A	280	49.1	○	○	○	○	○
B	300	53.1	×	×	○	○	○
C	287	50.5	○	○	○	○	○

考 察

当所では微生物検査（一般生菌数測定検査など）及び理化学検査（残留動物用医薬品検査）において内部及び外部精度管理を毎年実施しているが、病理組織検査の精度管理は内外問わず実施していなかった。そのため、HE染色標本の色調は担当者によって異なり、担当者の異動により診断が困難になる場合もあった。本研究では人医療領域で実施されている病理組織検査における精度管理¹⁻⁴⁾を参考に、当所でも実施可能な方法を検討した。特に、色調評価基準のHSV表色系は、色相値単独で色の傾向を表現可能であり³⁾、比較が容易となることから評価に用いた。既報³⁾では色調の評価基準が ± 2 SDに設定されているが、本研究では同範囲とするとすべてのHE染色標本が基準範囲内となってしまう、外れ値の検出が困難であった。これは検討に用いた組織が異なっており、特に胃底部組織ではエオジン好性の細胞質の量が多かったことが影響したと考えられた。そこで、本研究では36枚の中から肉眼評価基準を満たした標本を選定し、それらが全て範囲内かつ手技のぶれをある程度許容する余地を残した偏差値の範囲を色調評価基準として設定した。核の共染が多くの標本で見られたことから、想定していたよりも色調評価基準の範囲を狭く設定したが、それでも肉眼評価基準を満たさない標本が範囲内に入ることから、評価にあたっては色調評価基準と肉眼評価基準を合わせて評価する必要があった。

今回、設定した評価基準を用いて内部精度管理を実施した結果、3名中2名のHE染色標本において評価基準を満たした。基準を逸脱したHE染色標本を作製した病理組織検査担当者に自身の染色結果に

ついて聞き取り調査を実施したところ、「ヘマトキシリンが薄い」と評価した。色相値はエオジンの比率が高いほど300に近く、ヘマトキシリンが多くなると300から下方に移動する。当該担当者が作製したHE染色標本は色相値300であり、自身のHE染色標本の色調について色調評価基準と同様の評価をしていたことから、本研究で設定した色調評価基準は病理組織検査担当者の感覚と一致していると考えられた。なお、基準を満たさなかった担当者については、後日、再度内部精度管理を実施し、基準を満たしたHE染色標本の作製を確認した。

本研究では胃底部組織における肉眼評価基準及び色相評価基準を設定したが、用いる組織によっては本評価基準が適さない場合も予想される。しかし、基本となる染色態度を把握することでその他組織への応用が可能となることから、本研究はその第一歩として有用と考えられた。今後は本研究の他組織への応用や他染色法、他項目による評価基準等について検討していきたい。

引用文献

- 1) 柚木浩良, 藤田智洋, 迫欣二, 浅野敦, 菊地良介, 岡田元, 中根生弥, ヘマトキシリン・エオジン染色標準化への試み—中部圏内各施設において病理技師・病理医が最適とする色調について(アンケート結果のまとめ)—, 医学検査, 71 (1), 120-129 (2022)
- 2) 法村真一, 染色性の管理, 広島大学技術センター報告集, 13, 15-20 (2016)
- 3) 中村広基, Microsoft Excelを用いた病理染色標本の比較解析アプリケーション開発, 医学検査, 72 (1), 53-54 (2023)
- 4) 東学, 石田克成, 松原真奈美, 林裕司, 坂根潤一, 鈴木俊紀, 古屋周一郎, 我が国における病理組織検査精度管理の変遷, 医学検査, 69 (3), 438-444 (2020)