

病理検査部門 病理 精度管理報告

病理検査部門 病理 精度管理委員
熊谷 直哉(弘前大学医学部附属病院 病理部)

I. はじめに

鍍銀染色(渡辺の鍍銀)は結合組織線維の一種である細網線維及び膠原線維を染色する方法である。細網線維は肝、脾、リンパ節などの網内系組織に多く存在する緻密な繊維であり、細網状ないし格子状に走行していることから格子状繊維とも呼ばれる。細網線維の走行様式によりかつては未分化な悪性腫瘍の鑑別(上皮性か、非上皮性か)に用いられていたが、免疫染色の発達によりこの目的での鍍銀染色は行われなくなってきたものの、肝臓や脾臓、骨髄の線維化の評価には依然として有用性の高い染色法である。

II. 染色原理

鍍銀染色は細網線維の好銀性を利用した染色法であり、酸化、鉄ミョウバンによる増感の後アンモニア銀溶液を作用させることで細網線維に銀アンモニア錯体を沈着させる。この状態で還元を行うと、細網線維に沈着した銀アンモニア錯体が金属銀へと変化し、黒く染め出される。

III. 調査方法

鍍銀染色用として剖検症例の肝臓から作成したパラフィン包埋ブロックから 5 μ m の切片を作成し、各施設に未染標本 2 枚とアンケート回答用 Excel ファイルの入った USB メモリをそれぞれの施設に配布した。

また、今回は希望施設を対象にアルシアン青染色未染標本を染色して頂くこととした。アルシアン青染色用に剖検症例の唾液腺から作成したパラフィン包埋ブロックから 3 μ m の切片を作成し、各施設に未染標本 2 枚を併せて配布した。

染色済み標本と回答済み USB メモリを回収した。

IV. サーベイの評価

評価は病理医 2 名で行った。評価項目としては、粘液の染色性、アルシアン青の共染、後染色の染色性を設定した。それぞれを「診断に影響がなく、美しい標本」を 2 点、「診断に影響はないが、まだ工夫が必要な標本」を 1 点、「診断に影響をきたす標本」を 0 点とした。

また、総合判定として「診断に影響がなく、美しい標本」を A、「診断に影響はないが、まだ工夫が必要な標本」を B、「診断に影響をきたす標本」を C とした。

V. 主なアンケート結果まとめ

① 切片の厚さ

切片の厚さ(μm)	4	5	5~6	6	6~8	7~8	8	約10
施設数	2	3	1	4	2	1	1	1

② 年間染色枚数

年間染色枚数	0	2	0~5	10	20	50	200~300
施設数	5	1	1	1	4	1	2

③ 酸化剤

酸化剤	0.5%過マンガン酸カリウム		0.5%過ヨウ素酸		1.0%過ヨウ素酸	
調整法	自家調整	調整済み	自家調整	調整済み	自家調整	調整済み
施設数	5	2	5	1	2	0

④ 銀液に対するゼラチン液の添加

	ゼラチンを 添加する	ゼラチンを 添加しない
施設数	8	7

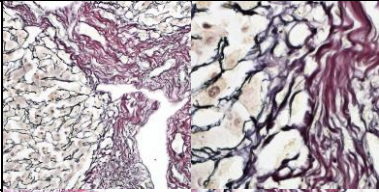
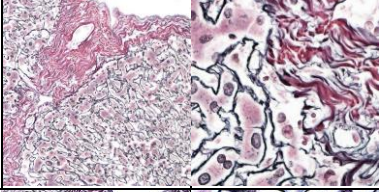
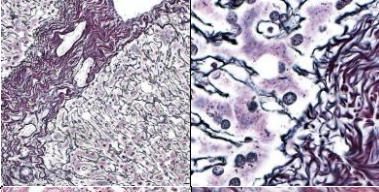
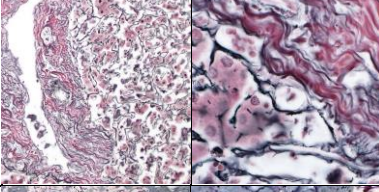
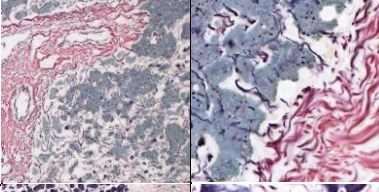
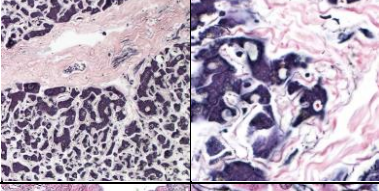
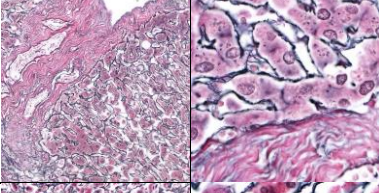
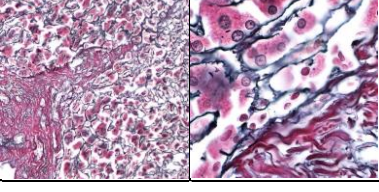
⑤ 塩化金後のシュウ酸処理の有無

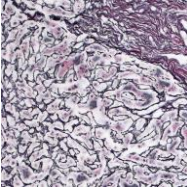
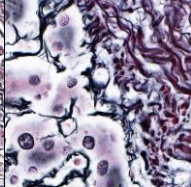
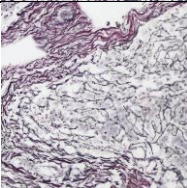
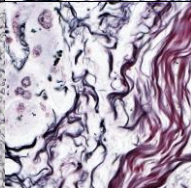
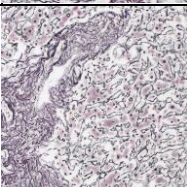
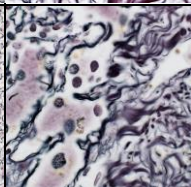
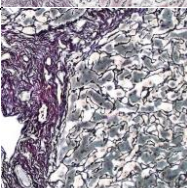
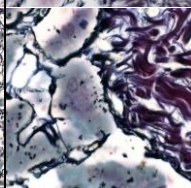
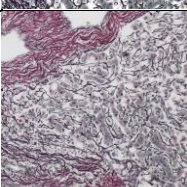
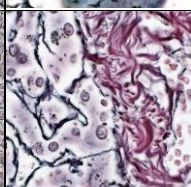
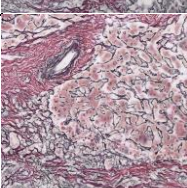
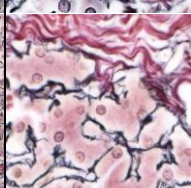
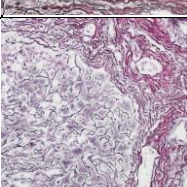
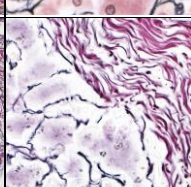

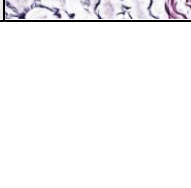




	あり	なし
施設数	11	4

⑥ 定着液

定着液	0.5%チオ硫酸 酸ナトリウム	1%チオ硫酸 酸ナトリウム	2%チオ硫酸 酸ナトリウム	5%チオ硫酸 酸ナトリウム	酸性硬膜定着 剤を5倍希釈
施設数	1	1	10	1	2

VI. 鍍銀染色の染色像および評価

施設コード	染色性の一例	細網線維の染色性	膠原線維の染色性	非特異染色の強さ	総合判定
1		2	1	2	A
		2	2	2	A
5		2	2	2	A
		2	2	1	B
26		2	1	2	A
		2	2	2	A
32		1	1	2	B
		1	2	1	B
33		0	1	0	C
		0	1	0	C
34		0	1	2	C
		0	0	0	C
43		1	2	2	A
		1	1	2	B
54		1	2	0	B
		1	1	0	C

施設コード	染色性の一例		細網線維の 染色性	膠原線維の 染色性	非特異染色 の強さ	総合判定
66			2	1	1	<i>B</i>
			2	2	1	<i>B</i>
79			1	1	1	<i>B</i>
			1	2	1	<i>B</i>
89			1	1	1	<i>B</i>
			2	1	2	<i>B</i>
90			1	0	1	<i>B</i>
			2	1	0	<i>B</i>
91			2	1	2	<i>A</i>
			2	2	1	<i>B</i>
92			1	2	2	<i>A</i>
			2	1	1	<i>B</i>
141			1	1	1	<i>B</i>
			1	2	1	<i>B</i>

VII. アンケート結果

施設コード	1	5	26	32			
切片の厚さ (μm)	7~8	8	5	5			
年間染色枚数	200~300	20	50	10枚			
酸化剤	0.5%過マンガン酸 カリウム水溶液	1%過ヨウ素酸水溶液	0.5%過ヨウ素酸水溶液	0.5%過マンガン酸 カリウム水溶液			
酸化剤の調整法	調整済み	自家調整	調整済み	調整済み			
酸化剤のメーカー	DAKO	和光純薬	和光純薬	和光純薬			
酸化後のシュウ酸	5%シュウ酸水溶液	なし	なし	2%シュウ酸水溶液			
鉄ミョウバン処理 メーカー	2.5%鉄ミョウバン水溶 DAKO	2%鉄ミョウバン水溶	2%鉄ミョウバン水溶	2%鉄ミョウバン水溶			
アンモニア銀の組成	0.2-1%硝酸銀	10%硝酸銀	5ml	20%硝酸銀液	2.5ml	10%硝酸銀水溶液	5mL
	0.02-0.2%水酸化アン モニウム	10%水酸化カリウム	5滴	10%水酸化カリウム	5滴	10%水酸化カリウム 水溶液	1mL
	0.2-1%水酸化カリウ ム	濃アンモニア	十数滴	濃アンモニア水		アンモニア水(28~ 30%)	
		蒸留水	50mlま でメス アップ	1%ゼラチン液	2.5ml	蒸留水	
		1%ゼラチン	2.5ml	蒸留水			
アンモニア銀の調整法	自動染色装置(Dako Artisan) を使用していますので、試薬 は全て付属のArtisan都銀染 色キットの組成です。	濃アンモニアは銀粒が10粒位 残るよう攪拌しながら滴下する		20%硝酸銀と10%水酸化カリ ウムを所定の量加え、混和す る。 混和した液を攪拌子ながら濃 アンモニア水を滴下し、黒色の 粒が 10粒ほど残る状態にする。 その液に蒸留水を加えて、全 量50mlにメスアップする。 さらに、1%ゼラチン液を2.5ml 加え使用液とする。	・50mL遠沈管に10%硝酸 銀水溶液5mlと10%水酸 化カリウム水溶液1mlを 入れ混和。 ・アンモニア水を滴下し銀 粒子が数個残るくらいに する。 ・蒸留水を加え50mLにメ スアップ。これを使用液と する。		
還元液の組成	20-33%エタノール	2%鉄ミョウバン	1ml	ホルマリン原液	0.5ml	ホルマリン原液	0.5mL
	3.3-10%ホルマリン	ホルマリン原液	0.5ml	2%鉄ミョウバン水	1ml	2%鉄ミョウバン水溶 液	1mL
	0.33-1.67%メタノール	蒸留水	37.5ml	蒸留水	48.5ml	蒸留水	48.5m L
還元液の調整法	自動染色装置(Dako Artisan)を使用しています ので、試薬は全て付属の Artisan都銀染色キットの 組成です。			上記の試薬を使用直前に 混和する。		使用直前に調整する。	
塩化金処理	0.2%塩化金	0.2%塩化金		0.2%塩化金		0.2%塩化金	
塩化金の調整法	調整済み	調整済み		調整済み		調整済み	
塩化金のメーカー	DAKO	和光純薬		武藤化学		ナカライテスク	
塩化金後のシュウ酸処理	なし	2%シュウ酸水溶液		2%シュウ酸水溶液		2%シュウ酸水溶液	
シュウ酸水溶液の調整法	-	自家調整		自家調整		自家調整	
シュウ酸のメーカー	-	和光純薬		和光純薬		和光純薬	
定着に用いる試薬	5%チオ硫酸ナトリウム	酸性硬膜定着剤を5倍希 釈		2%チオ硫酸ナトリウ ム		2%チオ硫酸ナトリウ ム	
定着液の調整法	調整済み	調整済み		自家調整		調整済み	
定着液のメーカー	DAKO	フジフィックス		和光純薬		武藤化学	

施設コード	33		34		43		54	
切片の厚さ (μm)	4		5~6		6		5	
年間染色枚数	0		0		2		0	
酸化剤	1%過ヨウ素酸水溶液		0.5%過ヨウ素酸水溶液		0.5%過マンガン酸カリウム水溶液		0.5%過マンガン酸カリウム水溶液	
酸化剤の調整法	自家調整		自家調整		自家調整		自家調整	
酸化剤のメーカー	和光純薬						和光純薬	
酸化後のシュウ酸	なし		なし		2%シュウ酸水溶液		2%シュウ酸水溶液	
鉄ミョウバン処理 メーカー	2%鉄ミョウバン水溶液		2%鉄ミョウバン		2%鉄ミョウバン水溶液		2%鉄ミョウバン水溶液	
アンモニア銀の組成	20%硝酸銀液	2.5ml	硝酸銀	1g	8%硝酸アンモニウム	7ml	10%硝酸銀液	10ml
	40%水酸化ナトリウム	2滴	10%水酸化ナトリウム	5滴	蒸留水	35ml	4%水酸化カリウム水溶液	5ml
	25%アンモニア水	数滴	アンモニア水	約10滴	4%水酸化ナトリウム	8ml	濃アンモニア水溶液	適量
	蒸留水	50ml	蒸留水	100ml	10%硝酸銀	3.8ml	蒸留水	
	1%ゼラチン液	2ml			1%ゼラチン	1ml		
アンモニア銀の調整法			三角コルベンに硝酸銀1gを入れ、蒸留水10mlを加え溶かす。10%水酸化ナトリウムを5滴滴下すると黒褐色の沈殿ができる。アンモニアを滴下し、攪拌することを黒褐色の沈殿を数粒残す程度まで繰り返す。全量が100mlになるまで蒸留水を加える。				10%硝酸銀と4%水酸化カリウムを所定の量加え、混和する。混和した液を攪拌しながら濃アンモニア水を滴下し、黒色の粒がわずかに残る状態にする。その液に蒸留水を加えて、全量100mlにメスアップする。	
還元液の組成	中性ホルマリン	1ml	ホルマリン	0.5ml	ホルマリン原液	1ml	ホルマリン原液	1ml
	2%鉄ミョウバン水溶液	2ml	2%鉄ミョウバン	1ml	2%鉄みょうばん	2ml	2%鉄ミョウバン水溶液	2ml
	蒸留水	97ml	蒸留水	48.5ml	蒸留水	97ml	蒸留水	97ml
還元液の調整法			使用する直前(アンモニア銀液に入ってから)に調製する					
塩化金処理	0.2%塩化金		0.2%塩化金		0.2%塩化金		0.2%塩化金	
塩化金の調整法	調整済み		調整済み		自家調整		自家調整	
塩化金のメーカー	和光純薬		武藤化学		武藤化学		ナカライテスク	
塩化金後のシュウ酸処理	-		-		2%シュウ酸水溶液		2%シュウ酸水溶液	
シュウ酸水溶液の調整法	-		-		自家調整		自家調整	
シュウ酸のメーカー	-		-		記載なし		ナカライテスク	
定着に用いる試薬	2%チオ硫酸ナトリウム		2%チオ硫酸ナトリウム		1%チオ硫酸ナトリウム水溶液		2%チオ硫酸ナトリウム水溶液	
定着液の調整法	自家調整		自家調整		自家調整		自家調整	
定着液のメーカー	和光純薬		和光純薬		記載なし		武藤化学	

施設コード	66		79		89		90	
切片的厚さ (μm)	6		6		約10		4	
年間染色枚数	0~5		20		約20		20	
酸化剤	0.5%過マンガン酸 カリウム水溶液		0.5%過ヨウ素酸水溶 液		0.5%過ヨウ素酸水溶 液		0.5%過マンガン酸 カリウム水溶液	
酸化剤の調整法	自家調整		自家調整		自家調整		自家調整	
酸化剤のメーカー	和光純薬		和光純薬		和光純薬		和光純薬	
酸化後のシュウ酸	2%シュウ酸水溶液		2%シュウ酸水溶液		2%シュウ酸水溶液		2%シュウ酸水溶液	
鉄ミョウバン処理 メーカー	2%鉄ミョウバン水溶		2%鉄ミョウバン水溶		2%鉄ミョウバン水溶		2%鉄ミョウバン	
アンモニア銀の組成	10%硝酸銀液	10ml	20%硝酸銀液	2.5ml	20%硝酸銀水溶液	2.5ml	10%硝酸銀	20ml
	10%水酸化カリウム	11滴	10%水酸化カリウム	5滴	10%水酸化カリウム	5滴	10%水酸化カリウ ム	4ml
	25%アンモニア水		濃アンモニア水		濃アンモニア水	約1ml	アンモニア	顆粒を わずかに 残す
	蒸留水		1%ゼラチン液	2ml	DW	total50m lにメス アップ	蒸留水	73ml
			蒸留水		1%ゼラチン	2.5ml		
アンモニア銀の調整法	10%硝酸銀液10ml に、10%水酸化カリウム 11滴を加えると黒褐色 の沈殿ができる。これ を良く浸透しながら、 25%アンモニア水を 滴下し透明になる直 前でやめる。(ごくわず かに沈殿が残る程度) 最後に蒸留水を加え て、100mlとする。		20%硝酸銀2.5mlと10%水酸化 カリウムを駒込ビペットにて 5滴加え、混和する。 混和した液を攪拌しながら濃 アンモニア水を滴下し、黒色の 粒が 10粒ほど残る状態にする。 その液に蒸留水を加えて、全 量50mlにメスアップする。 さらに、1%ゼラチン液を2ml 加え使用液とする。		50ml三角フラスコに硝酸 銀水溶液と水酸化カリウ ムを加え、フラスコの底部 を回転させながら混和後、 濃アンモニア水を攪拌しな がら滴下し、黒色顆粒が 10粒程残る状態を終点と する。その後DWを加えて 全量50mlにメスアップす る。更に1%ゼラチン2.5ml を加えて使用液とする。		10%硝酸銀 20mlに10% 水酸化カリウム 4mlをフ ラスコを振りながら入れ、 細かい顆粒を作る。 顆粒をわずかに残すよう にアンモニアを滴下する。 蒸留水を加え全量を 100mlにする。 ($2\text{O}+4+\text{NH}_3$ の使用量+ 蒸留水)=100ml	
還元液の組成	ホルマリン原液	1ml	ホルマリン原液	2ml	2%鉄ミョウバン	1ml	局法ホルマリン	1ml
	2%鉄ミョウバン水	2ml	2%鉄ミョウバン水	4ml	ホルマリン原液	0.5ml	2%鉄みょうばん	3ml
	蒸留水	97ml	蒸留水	194ml	蒸留水	37.5ml	蒸留水	96ml
還元液の調整法			蒸留水、鉄ミョウバン、ホル マリンの順に使用直前 に調整。		使用直前に上記の順に混合 する。		切片をアンモニア銀に入れ てから調整する。	
塩化金処理	0.2%塩化金		0.2%塩化金		0.2%塩化金		0.2%塩化金	
塩化金の調整法	自家調整		自家調整		調整済み		自家調整	
塩化金のメーカー	ナカライ		記載なし		武藤化学		和光純薬	
塩化金後のシュウ酸処理	2%シュウ酸水溶液		2%シュウ酸水溶液		2%シュウ酸水溶液		なし	
シュウ酸水溶液の調整法	自家調整		自家調整		自家調整		-	
シュウ酸のメーカー	和光純薬		記載なし		和光純薬		-	
定着に用いる試薬	酸性硬膜定着液 (5倍希釈液)		2%チオ硫酸ナトリウム 水溶液		2%チオ硫酸ナトリウム 水溶液		0.5%チオ硫酸ナトリウム	
定着液の調整法	自家調整		自家調整		自家調整		自家調整	
定着液のメーカー	記載なし		記載なし		和光純薬		和光純薬	

施設コード	91		92		141	
切片の厚さ (μ m)	6~8		6		6~8	
年間染色枚数	50		0		0	
酸化剤	0.5%過ヨウ素酸水溶液		0.5%過マンガン酸カリウム水溶液		0.5%過ヨウ素酸水溶液	
酸化剤の調整法	自家調整		自家調整		自家調整	
酸化剤のメーカー	和光純薬		-		-	
酸化後のシュウ酸鉄ミョウバン処理	なし		2%シュウ酸水溶液		なし	
メーカー	2%鉄ミョウバン		2%鉄ミョウバン		2%鉄ミョウバン	
アンモニア銀の組成	20%硝酸銀	2.5ml	8%硝酸アンモニウム	7ml	20%硝酸銀水溶液	2.5ml
	10%水酸化カリウム	5滴	蒸留水	35ml	10%水酸化カリウム	5滴
	アンモニア水	適当量	4%水酸化ナトリウム	8ml	アンモニア水	数滴
	1%ゼラチン	2.5ml	10%硝酸銀	3.8ml	蒸留水	上記全量50ml
					1%ゼラチン	2.5ml
アンモニア銀の調整法	三角フラスコで20%硝酸銀液2.5mlに10%水酸化カリウムを5滴加え、フラスコの底部を回転させながら混和後、濃アンモニア水を攪拌しながら滴下、黒色顆粒が10粒程度残る状態をアンモニアを加える終点とする。その液に蒸留水を加えて全量を50mlとする。さらに1%ゼラチン2.5mlを加えて使用液とする。		4%水酸化ナトリウムは、40%のものを使用時に希釈して用いる。		アンモニア水の滴下は黒色顆粒が10粒程度残る状態で終了。使用時に調製。	
還元液の組成	ホルマリン原液	2ml	ホルマリン原液	0.5ml	ホルマリン原液	2ml
	2%鉄ミョウバン水	4ml	2%鉄ミョウバン水	1ml	2%鉄ミョウバン水	4ml
	蒸留水	150ml	蒸留水	48.5ml	蒸留水	150ml
還元液の調整法			使用時に作製する。		使用時に調製。	
塩化金処理	0.2%塩化金		0.2%塩化金		0.2%塩化金	
塩化金の調整法	調整済み		自家調整		自家調整	
塩化金のメーカー	ナカライテスク		記載なし		記載なし	
塩化金後のシュウ酸処理	2%シュウ酸水溶液		2%シュウ酸水溶液		2%シュウ酸水溶液	
シュウ酸水溶液の調整法	自家調整		自家調整		自家調整	
シュウ酸のメーカー	和光純薬		記載なし		記載なし	
定着に用いる試薬	2%チオ硫酸ナトリウム水溶液		2%チオ硫酸ナトリウム水溶液		2%チオ硫酸ナトリウム水溶液	
定着液の調整法	自家調整		自家調整		自家調整	
定着液のメーカー	和光純薬		記載なし		記載なし	

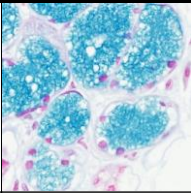
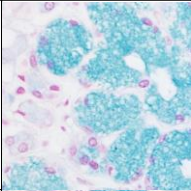
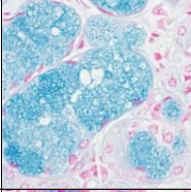
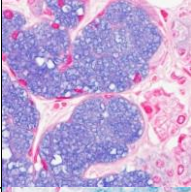
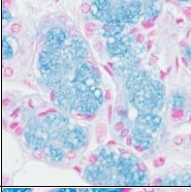
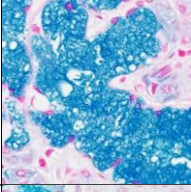
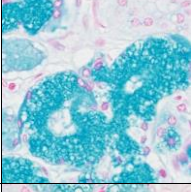
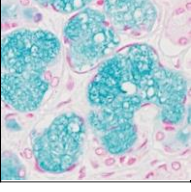
施設コード	1			5			26			32		
	脱バラ、親水	時間	備考	脱バラ、親水	時間	備考	脱バラ、親水	時間	備考	脱バラ、親水	時間	備考
酸化	0.5%過マンガン酸カリウム	5分		1%過ヨウ素酸	3分		1%過ヨウ素酸	3分		0.5%過マンガン酸カリウム水溶液	5分	
	洗浄2回		Artisan洗浄液を使用	水洗	5分		水洗	5分		水洗		軽く流す
還元	5%シュウ酸	5分								蒸留水		なじませる程度
	洗浄2回		Artisan洗浄液を使用							2%シュウ酸水溶液	2分	切片が白くなるまで
増感	2.5%硫化第二鉄アンモニウム(鉄ミョウバン)	5分		2%鉄ミョウバン	1分	1分を超えない	2%鉄ミョウバン	50秒	1分を超えない	2%鉄ミョウバン水溶液	1分	1分を超えない
	洗浄4回		Artisan洗浄液を使用	水洗	5分		水洗	5分		水洗	5分	
鍍銀	アンモニア銀	5分		ゼラチン加アンモニア銀液	10分		ゼラチン加アンモニア銀液	10分		アンモニア銀液	10分	
	10%アルコールホルマリン	5分		95%エタノール	1秒		95%エタノール	1秒		95%アルコール		洗浄瓶を用い、切片をまんべんなくしつかない様子をスライドの裏・裏と両面に吹き付ける。ある程度速早く。
還元	洗浄11回		Artisan洗浄液を使用	還元液	2分	入れたら動かさない	還元液	2分	入れたら動かさない	還元液	1分	スライドを勢いよく入れたら、あとは動かさない。
				水洗	5分		水洗	5分		蒸留水		なじませる程度
調色	0.2%塩化金	5分		0.2%塩化金	30分		0.2%塩化金	1時間以上		0.2%塩化金水溶液	10分	
	洗浄4回		Artisan洗浄液を使用	水洗	5分		水洗	5分		水洗		軽く流す
定着	5%チオ硫酸ナトリウム	5分		2%シュウ酸	1分		2%シュウ酸	1分		2%シュウ酸水溶液	5分	
	洗浄5回		Artisan洗浄液を使用	水洗	5分		水洗	5分		水洗		軽く流す
	脱水・透徹・封入			脱水・透徹・封入			脱水・透徹・封入			脱水・透徹・封入		

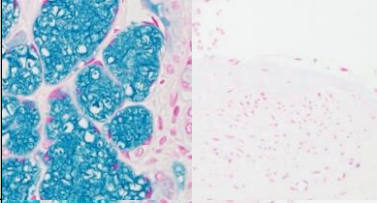
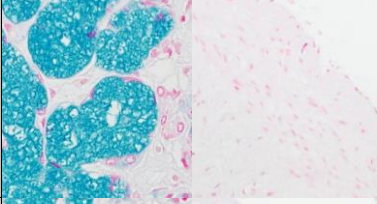
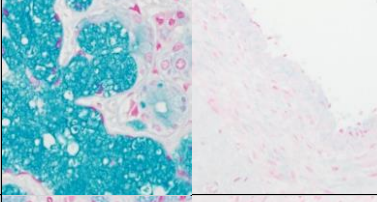
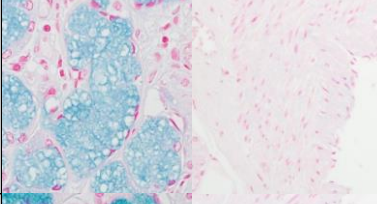
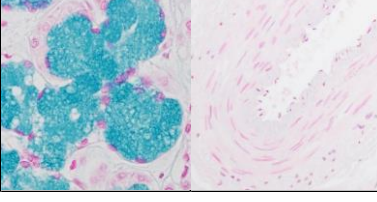
施設コード	33			34			43			54		
	脱バラ、親水	時間	備考	脱バラ、親水	時間	備考	脱バラ、親水	時間	備考	脱バラ、親水	時間	備考
酸化	1.0%過ヨウ素酸	3分		0.5%過ヨウ素酸水溶液	3分		0.5%過マンガン酸カリウム水溶液	3分		0.5%過マンガン酸カリウム水溶液	3分	切片は褐色
	水洗	5分		流水水洗	3分		流水水洗	5分		軽く水洗し、蒸留水を通す		
還元										2%シュウ酸水溶液	1分30秒	切片の褐色が消えるまで
										流水水洗、蒸留水を通す	5分	
増感	2%鉄ミョウバン水溶液	50秒程度		2%鉄ミョウバン水溶液	1分		2%鉄ミョウバン水溶液	50秒	1分を超えない	2%鉄ミョウバン水溶液	50秒	1分を超えない程度
	水洗	3分		蒸留水	1分×3		流水水洗	5分		流水水洗	5分	
鍍銀	アンモニア銀液	10分		アンモニア銀液	10分		アンモニア銀液	10分		アンモニア銀液	7分	切片が薄茶色
	95%エタノール	1~2秒		95%アルコール	1秒	2回出し入れ	95%エタノール	数秒上下		95%エタノール	1秒	
還元	還元液	2分		還元液	2分	数回出し入れして切片全体が褐色になったら静置	還元液	2分	使用直前に調整	還元液	2分	還元液に入れたら動かさない
	水洗	5分		流水水洗	2分		流水水洗	5分		流水水洗、蒸留水を通す		
調色	0.2%塩化金酸水溶液	1時間		0.2%塩化金	2時間	普段は10分だが昼食時にかかったのが長かったです。	0.2%塩化金水溶液	1時間		0.2%塩化金酸水溶液	60分	
	水洗	5分		流水水洗	5分		蒸留水×3	10秒		軽く水洗し、蒸留水を通す		
定着	2%チオ硫酸ナトリウム水溶液	5分		2%チオ硫酸ナトリウム水溶液	5分		1%チオ硫酸ナトリウム	1分		2%チオ硫酸ナトリウム水溶液	5分	
	水洗	2分		流水水洗	5分		流水水洗	5分		水洗	2分	
	脱水・透徹・封入			脱水・透徹・封入			脱水・透徹・封入			脱水・透徹・封入		

施設コード	86			79			89			90		
	脱バラ、親水	時間	備考	脱バラ、親水	時間	備考	脱バラ、親水	時間	備考	脱バラ、親水	時間	備考
酸化	0.5%過マンガン酸カリウム	3分		0.5%過ヨウ素酸	3分		0.5%過ヨウ素酸水溶液	3min		0.5%過マンガン酸カリウム	10分	
	流水洗→蒸留水			水洗	5分		流水水洗	3min		水洗	5分	
還元	2%シュウ酸	2分					2%シュウ酸	1min		2%シュウ酸		切片白くならしたら水洗
	流水洗→蒸留水	5分					流水水洗	3min		水洗	5分	
増感	2%鉄ミョウバン水	50秒		2%鉄ミョウバン水溶液	40秒	厳守	2%鉄ミョウバン	1min		2%鉄ミョウバン	1分	
	流水洗	3分		蒸留水	十分に	スライドを掃すりながら掛け流す	DW	3槽		水洗	2分	
	蒸留水	2分 2回								減菌蒸留水	2分 2槽	充分に洗浄
鍍銀	アンモニア銀液	15分		アンモニア銀液	10分		ゼラチン加アンモニア銀液	10min		アンモニア銀	7分	
分別	95%エタノール	1秒		95%エタノール		エタノールをスライドガラスに載せる程度の時間	95%アルコール	1~2s		70%アルコール	2秒	
還元	還元液	1分以上		還元液	2分	エタノールを載せたまま還元液(200ml作製)に入れて静置。	還元液	2min		還元液	2分	染色ムラになるので切片を動かさない
	流水洗→蒸留水						流水水洗	3min		水洗	5分	
調色	0.2%塩化金液	30分		0.2%塩化金液			0.2%塩化金	10min		0.2%塩化金	30分	
	蒸留水			水洗	5分		DW	3槽		水洗	1分	
	2%シュウ酸	3分		2%シュウ酸	1分		2%シュウ酸	1min				
	流水洗→蒸留水			水洗	3分		流水水洗	3min				
定着	酸性硬膜定着液	3分		2%チオ硫酸ナトリウム水溶液	5分		2%チオ硫酸ナトリウム	5min		0.5%チオ硫酸ナトリウム	5分	
	流水洗			水洗	2分		流水水洗	3min		水洗	5分	
	脱水・透徹・封入			脱水・透徹・封入			脱水・透徹・封入			脱水・透徹・封入		

施設コード	91			92			141		
	脱バラ、親水	時間	備考	脱バラ、親水	時間	備考	脱バラ、親水	時間	備考
酸化	0.5%過ヨウ素酸水	2~3分		0.5%過マンガン酸カリウム	3分		0.5%過ヨウ素酸水	3分	
	水洗	3分		水洗→蒸留水水洗			水洗	3分	
還元				2%シュウ酸	2~3分	完全に漂白			
				蒸留水水洗	5分	2~3回換える			
増感	2%鉄ミョウバン	1分		2%鉄ミョウバン液	50秒	1分を超えないように	2%鉄ミョウバン水	1分	
	蒸留水水洗	各3~5秒	3回ほど蒸留水を交換してよく洗う	水洗	3分		蒸留水水洗3槽	各3~5秒	
			蒸留水水洗	2分ずつ3回					
鍍銀	ゼラチン加アンモニア銀液	7~10分		アンモニア銀液	10~25分		ゼラチン加アンモニア銀液	10分	
分別	95%アルコール	1~2秒	素早く2回通す程度ですぐに還元液に移す	95%エタノール	1秒		95%アルコール	1~2秒	
還元	還元液	1~2分	還元液に入れる時はよく攪拌しながら入れる	還元液	1~2分	1分は動かさない	還元液	2分	
	水洗	1~2分		水洗	5分		流水水洗	1~2分	
	蒸留水	5~10秒		蒸留水水洗	2~3回		蒸留水	5~10秒	
調色	0.2%塩化金	10分		0.2%塩化金液	30分~		0.2%塩化筋液	60分	
	蒸留水水洗	各3~5秒	3回ほど蒸留水を交換してよく洗う	水洗	3分		蒸留水水洗3槽	各3~5秒	
			蒸留水水洗	2~3回					
	2%酢酸	1分		2%シュウ酸	1分		2%シュウ酸水	1分	
	水洗	3~5分		水洗	3分		流水水洗	5分	
			蒸留水水洗	2~3回					
定着	2%チオ硫酸ナトリウム(定着液)	3~5分		2%チオ硫酸ナトリウム液	5分		定着液	5分	
	水洗	1~2分		水洗	5分		流水水洗	1~2分	
	脱水・透徹・封入			脱水・透徹・封入			脱水・透徹・封入		

VIII. アルシアン青染色結果及び評価

施設コード	染色性の一例	粘液の染色性	アルシアン青の共染	核染色の染色性	総合判定
1		2	2	1	<i>B</i>
		2	2	2	<i>A</i>
5		2	2	1	<i>B</i>
		2	1	2	<i>B</i>
26		1	2	1	<i>B</i>
		1	2	2	<i>B</i>
32		1	1	1	<i>B</i>
		0	2	2	<i>C</i>
33		1	2	1	<i>B</i>
		1	1	2	<i>B</i>
34		2	2	2	<i>A</i>
		2	2	2	<i>A</i>
43		2	1	1	<i>B</i>
		2	1	1	<i>B</i>
54		1	2	1	<i>B</i>
		1	1	2	<i>B</i>

施設コード	染色性の一例	粘液の染色性	アルシアン青の共染	核染色の染色性	総合判定
66		2	2	1	<i>B</i>
		2	1	2	<i>B</i>
79		2	2	1	<i>B</i>
		2	2	2	<i>A</i>
89		2	2	1	<i>B</i>
		2	1	2	<i>B</i>
91		0	2	1	<i>C</i>
		1	2	1	<i>B</i>
92		1	2	1	<i>B</i>
		1	1	2	<i>B</i>

IX. まとめ

今年度の精度管理は鍍銀染色を題材としたが、県内の施設の約半数では染色枚数が年間 10 枚以下である一方で、年間 200～300 枚程度染色している施設もあり、実施状況の差が施設間で非常に大きい染色である。このような状況を反映してか、A 評価を獲得できた施設は約半数の 6 施設であり、病理医 2 名の評価がともに C 評価となった施設も 2 施設あり、染色法・試薬等を今一度見直す必要があると考える。

鍍銀染色の際の酸化剤は教科書的には 0.5% 過マンガン酸カリウムを使用しているが、0.5% ないし 1% 過ヨウ素酸を用いても同様の結果が得られるという報告¹⁾もあり、実際今回の標本からも両者の染色性の差は見られなかった。過マンガン酸カリウムが特定化学物質であることを考えると作業環境への配慮という観点から過ヨウ素酸による酸化への切り替えを考えていく必要があると考える。染色頻度が比較的少ない染色であり、県内の 5 施設で年間染色枚数が 0 枚ということでしたが、そういった施設におかれましても今回のサーベイが鍍銀染色に関して考えて頂く一つのきっかけになれば幸いです。

また、今年度は昨年度行ったアルシアン青染色を一定手順（JAMT 技術教本シリーズ 病理検査技術教本に準じた方法）で染色していただき、評価を行った。A 評価を獲得した施設は昨年度の 1 施設から 3 施設へ増加し、総合評価では昨年度と同様であった施設でも核染色の染色性の項目で改善した施設が多く見られた。染色性の改善・精度管理の観点からも今回の染色法を各施設参考にしていただければと考える。

参考文献

- 1) 田島秀昭, 當銘良也, 藤澤紀良: 過ヨウ素酸を用いた細網線維染色法. 検査と技術 43(5): 436-437, 2015