

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

1. はじめに

病理組織検査は、顕微鏡を通して見えた組織構造や細胞を基に診断する検査であり、と畜検査時に肉眼所見からは診断できない腫瘍等に対して実施している。特にヘマトキシリン・エオジン(以下、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であるが、その染色態度には個人間差や施設間差がある。一方、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⁴⁾。また、全国的に公務員獣医師の職員数が減少しており、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。

2. 材料と方法

法村¹⁾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、肉眼評価基準(Table1)を定めた。検体は10%中性緩衝ホルマリン液で固定後、定法に従い、切片を作製した。

Table1. 胃底部組織HE染色標本における肉眼評価基準(法村¹⁾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

色調の評価にはHSV表色系の色相値を用いることとした。肉眼評価基準を満たす基準となる色調を設定後、4枚が外れ値となるように染色条件の異なるHE染色標本を36枚作製し、粘膜上皮を対物4倍で撮影した。撮影画像はMicrosoft Excelに取り込み、平均RGBを算出後、HSV表色系に変換し、平均値、標準偏差(SD)及び偏差値を求めて色調評価基準の設定に用いた。

設定した評価基準を用いて、3名の病理組織検査担当者に対して用手によるHE染色標本の内部精度管理を実施した。

3. 結果

染色条件の異なるHE染色標本36枚の平均色相値は284.6、標準偏差は46.3であった。基準とした色調のHE染色標本の偏差値は49.9となり、肉眼評価基準も踏まえて偏差値 50 ± 1 を色調評価基準として設定した。この色調評価基準では、基準の色調として設定したHE染色標本の色相値は284であり、色調評価基準は280~289となった。

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名が基準に達していた。

Table2. 内部精度管理結果

担当者	色相	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	○	○	○	○	○

4. 考察

現在、当所では微生物検査及び理化学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、病理組織検査においては、内外部問わず精度管理を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、当所でも利用可能な形を検討した。特に中村²⁾は色調の基準として±2SDの範囲を設定したが、本研究では±SDの範囲で36枚中35枚が範囲内となってしまう、想定した外れ値の検出が困難であった。これは中村²⁾とは検討に用いた組織が異なっており、特にエオジン好性の細胞質の量が胃底部組織では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であつて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(50±1)を色調評価基準として設定した。核の共染が想定していたよりも多くの標本で見られたことから、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も入ることから、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る。

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。本研究の色調評価基準は280~289であり、病理組織検査担当者は自身の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。

本研究では肉眼評価基準及び色相評価基準を設定し、内部精度管理を実施した。用いる組織によっては、本評価基準が不適の場合もあると考えられる。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活用可能と考えられた。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。

5. 参考文献

- 1) 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)
- 2) 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), 43-54(2023)
- 3) 東学 他, 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)
- 4) 柚木浩良 他, ヘマトキシリン・エオジン染色標準化への試みー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)ー, 医学検査, 71(1), 120-129(2022)