

平成22年度千臨技細胞診検査研究班精度管理報告

喀痰塗抹標本を用いた細胞判定と
Papanicolaou染色性の評価

国保君津中央病院 松尾 真吾

千臨技細胞診検査研究班精度管理委員

目的

1. 喀痰塗抹標本における細胞判定と報告書との整合性の評価
2. 千葉県におけるPapanicolaou染色性の評価
3. 各施設における染色性の特徴の把握
4. 染色性向上のための手技の検討

方法

1. 喀痰を塗抹し、アルコール固定後迅速コーティング剤を塗布した未染色標本とアンケートを送付
2. 各施設にてPapanicolaou染色と細胞判定を実施
3. 染色標本、細胞判定の報告書、アンケートを回収
4. Papanicolaou染色性の評価、アンケートの集計、細胞判定の評価を行った

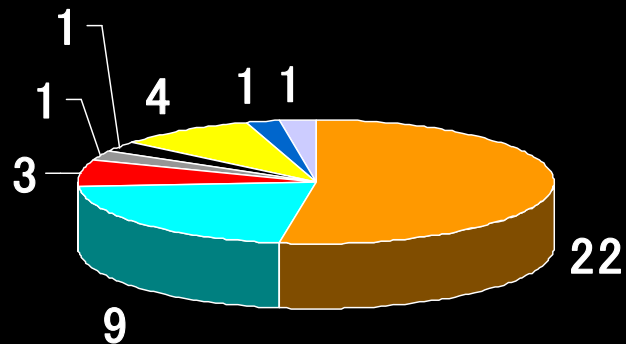
1. アンケート集計

Papanicolaou染色に関する質問

42施設より回答を得る

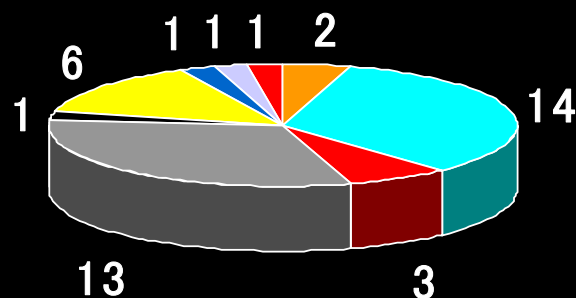
ヘマトキシリンについて

染色液の種類



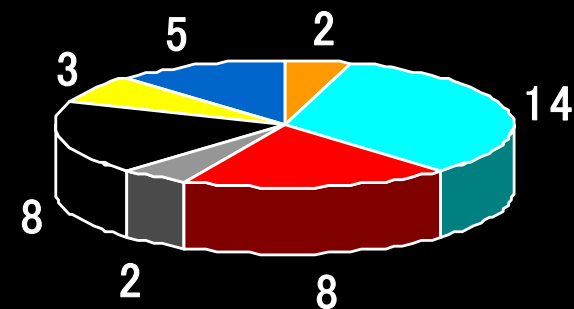
- 武藤化学:ギルV原液
- 武藤化学:ギルV2倍希釈
- 武藤化学:ギルV3倍希釈
- 武藤化学:ギルV10倍希釈
- 武藤化学:ギルIII原液
- 武藤化学:ギルII原液
- サクラ:ギル原液
- サクラ:ギル2倍希釈

染色時間



- 45秒
- 1分
- 1.5分
- 2分
- 2.5分
- 3分
- 4分
- 8分
- 記載なし

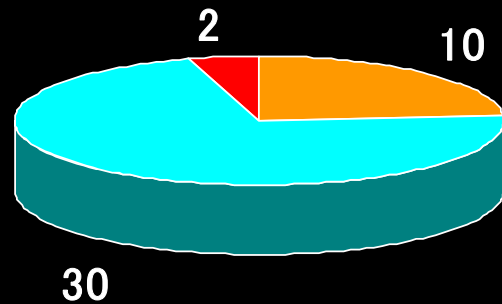
染色液の交換周期



- 1日
- 1週
- 2週
- 3週
- 4週
- 不定期新調
- 継ぎ足し

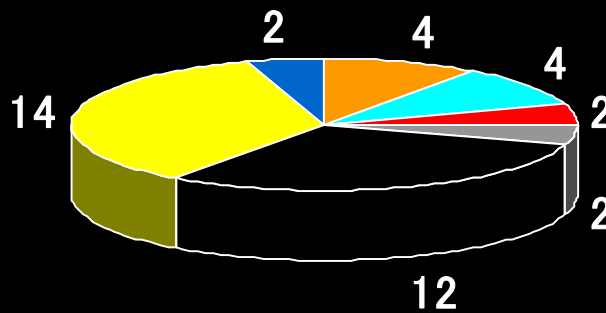
分別液について

分別液の種類



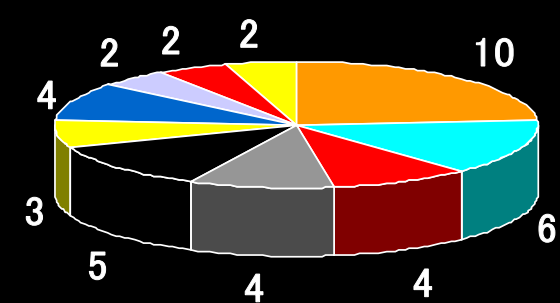
- 塩酸水
- 塩酸70%アルコール
- 塩酸100%アルコール

分別液の濃度



- 0.1% \geq
- 0.20%
- 0.25%
- 0.30%
- 0.50%
- 1%
- 1% <

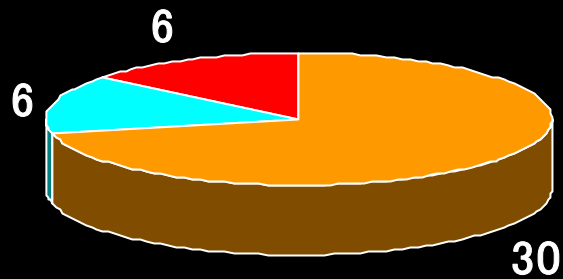
分別時間



- 10秒未満
- 10秒
- 15秒
- 20秒
- 30秒
- 45秒
- 60秒
- 90秒
- 120秒
- その他

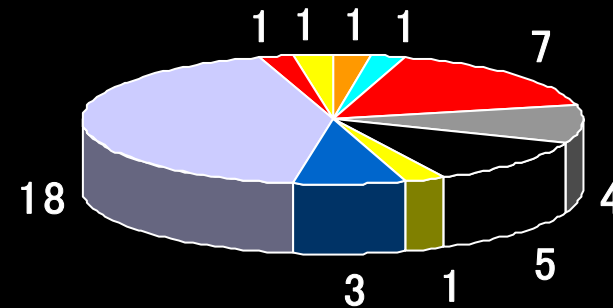
色出し液について

色出し液の種類



- 流水
- 流水(温水)
- アンモニアアルコール

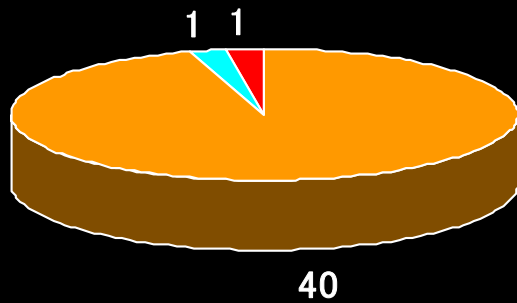
色出し時間



- 30秒
- 45秒
- 1分
- 2分
- 3分
- 3分30秒
- 4分
- 5分
- 8分
- 10分

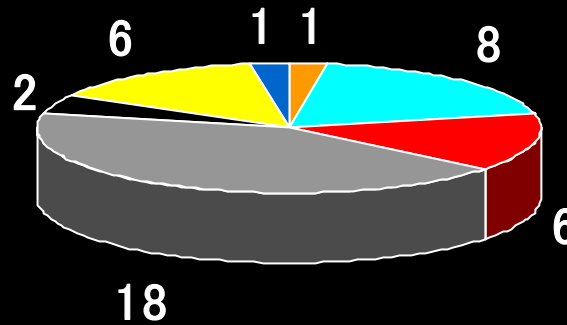
OG染色液について

OG染色液の種類



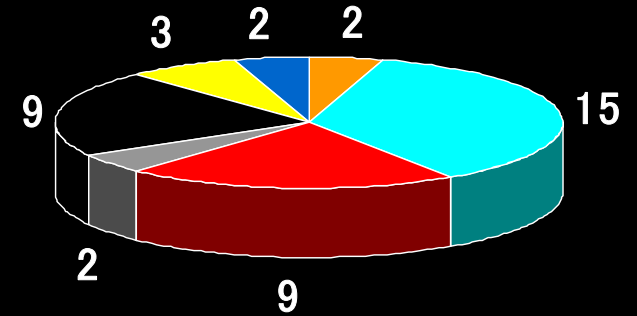
- 武藤化学:OG-6
- 武藤化学:OG-6(typeA)
- サクラ:OG

OG染色時間



- 20秒
- 1分
- 1.5分
- 2分
- 2.5分
- 3分
- 8分

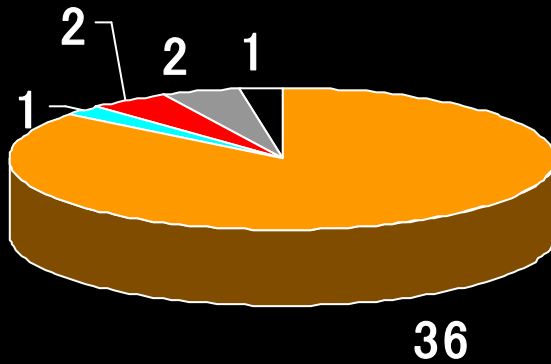
OG, EA染色液の交換周期



- 1日
- 1週
- 2週
- 3週
- 4週
- 不定期新調
- 継ぎ足し

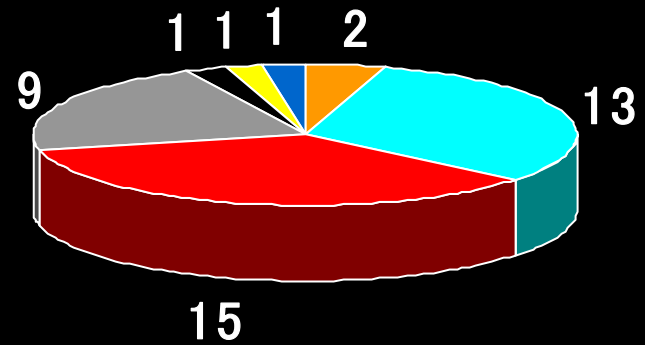
EA染色液について

EA染色液の種類



- 武藤化学:EA50
- 武藤化学:EA50(typeA)
- 武藤化学:EA50(No.1)
- 武藤化学:EA36
- サクラ:EA

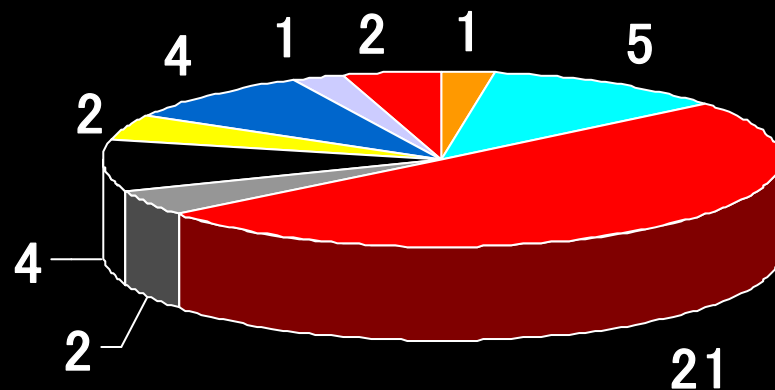
EA染色時間



- 1.5分
- 2分
- 3分
- 4分
- 4.5分
- 5分
- 8分

アルコールについて

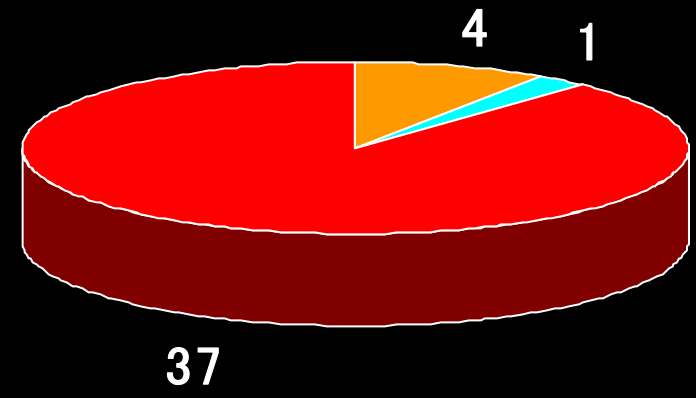
アルコールの種類



- 武藤化学:95%アルコール
- 武藤化学:純アルコール
- 武藤化学:変性アルコール(病理用エタノール100)
- 関東化学:純エタノール
- 関東化学:変性アルコール(ドライゾールN)
- 和光:95%エタノール
- 和光:100%エタノール
- 和光:変性アルコール組織脱水液95v/v%脱水液
- 記載なし

媒染剤について

媒染剤の種類



- 酢酸アルコールとリンタングステン酸アルコール
- 酢酸アルコール・リンタングステン酸アルコール混合液
- 使用なし

2. 細胞判定

42施設の集計

症例

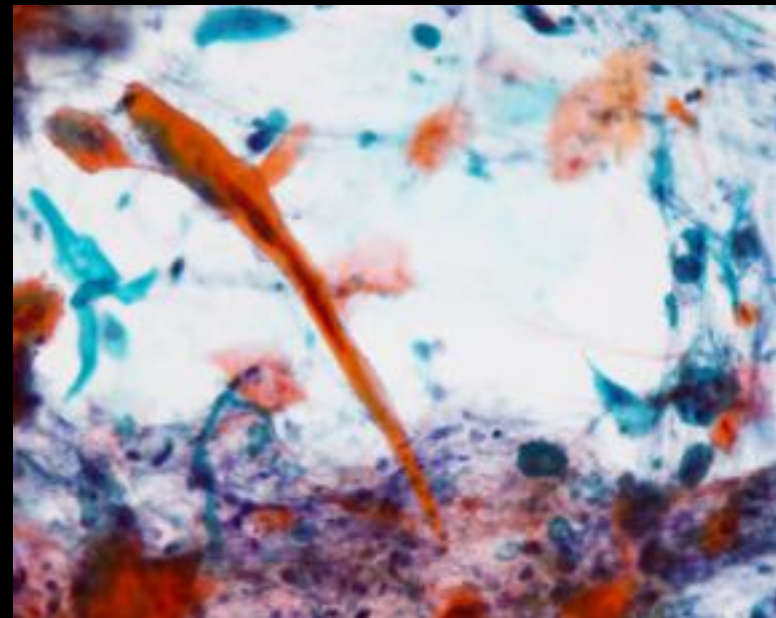
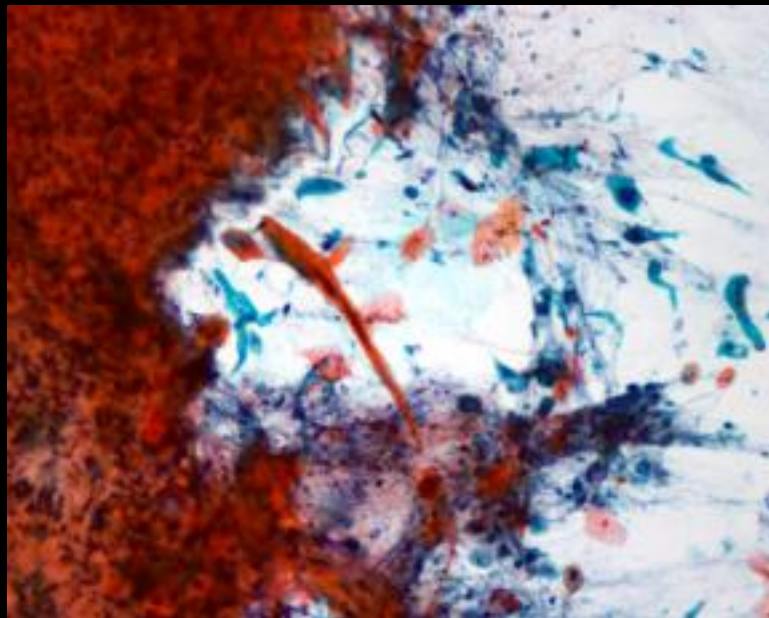
70歳代 男性

右胸部異常陰影を指摘され、肺癌疑いにて精査

SCC : 170ng/ml (基準値1.5 ng/ml 以下)

シフラ: 50 ng/ml (基準値3.5 ng/ml 以下)

細胞診断 Squamous cell carcinoma



評価基準

1. 細胞判定が陽性で推定組織型が扁平上皮癌もしくは扁平上皮癌疑いであること
2. 上記以外の場合出現細胞と報告書の細胞判定、細胞所見に整合性があること

評価方法

評価基準1もしくは2を満たしている:2点

減点対象

減点2点:細胞判定、推定組織型が異なる

減点1点:出現細胞と報告書に整合性がない

細胞判定集計結果

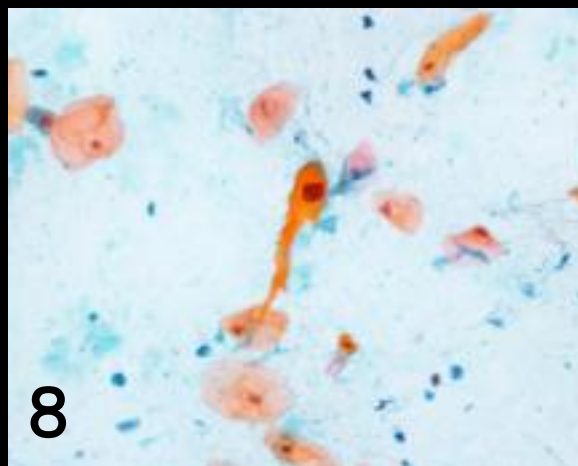
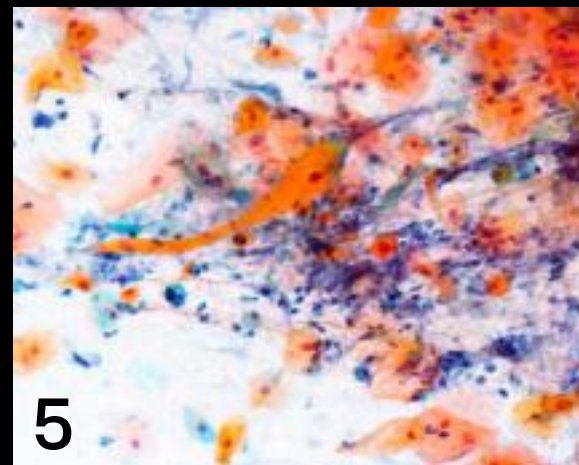
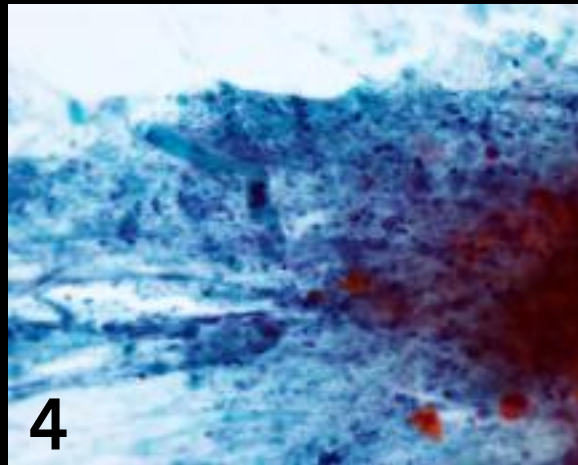
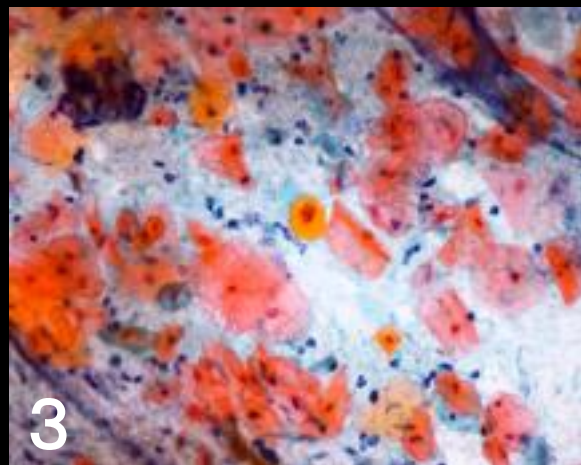
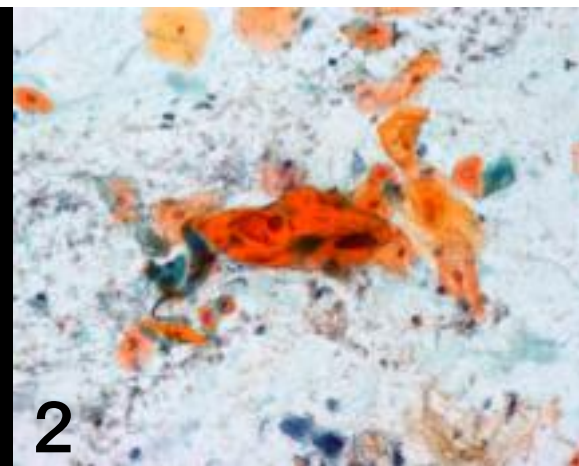
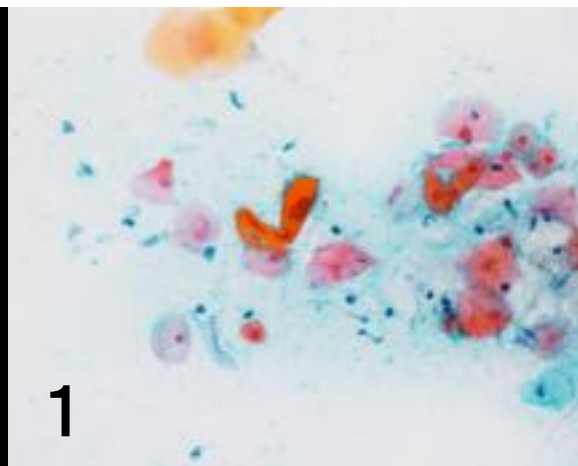
推定組織型(2点)

扁平上皮癌	30施設
扁平上皮癌疑い	9施設
扁平上皮癌を否定できず	3施設

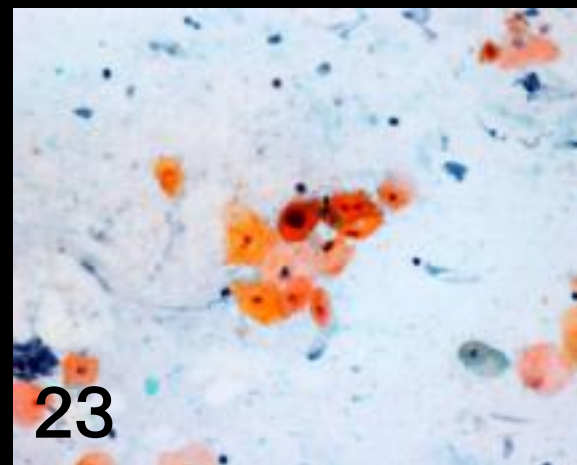
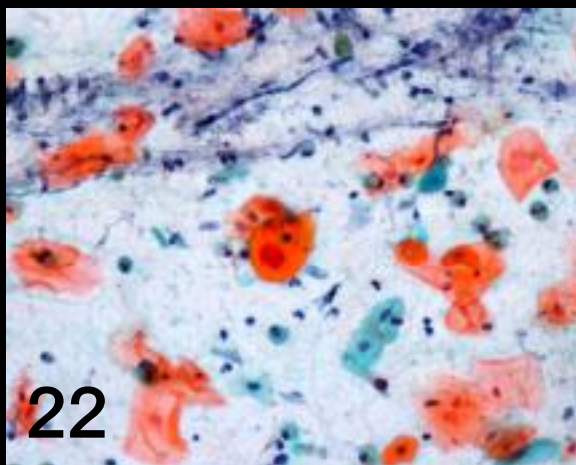
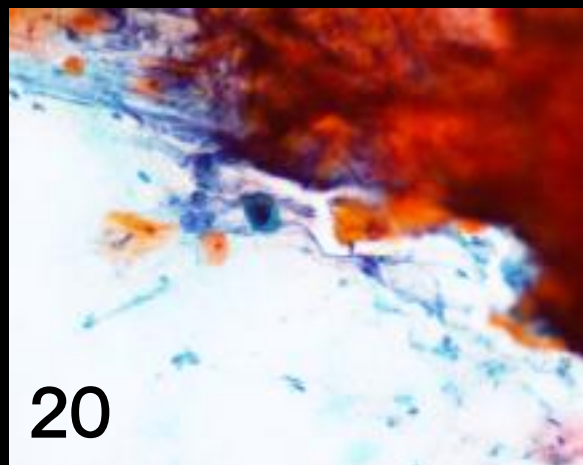
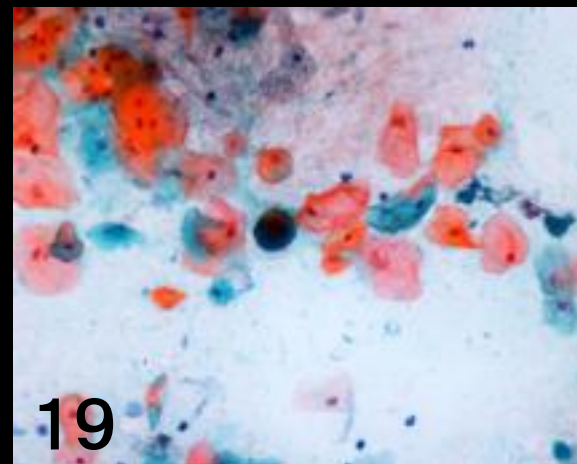
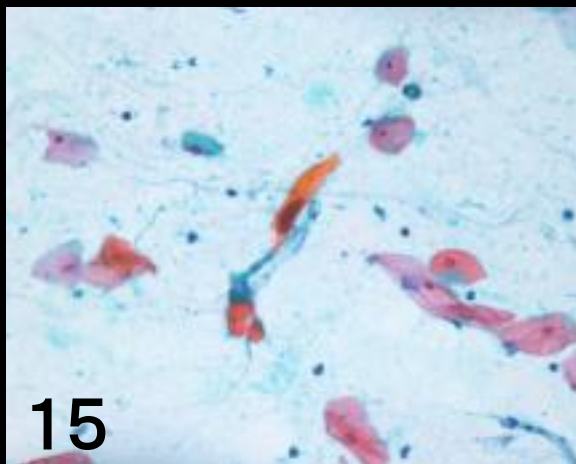
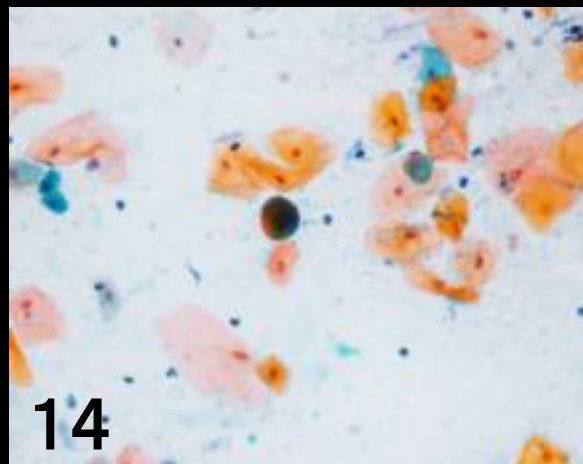
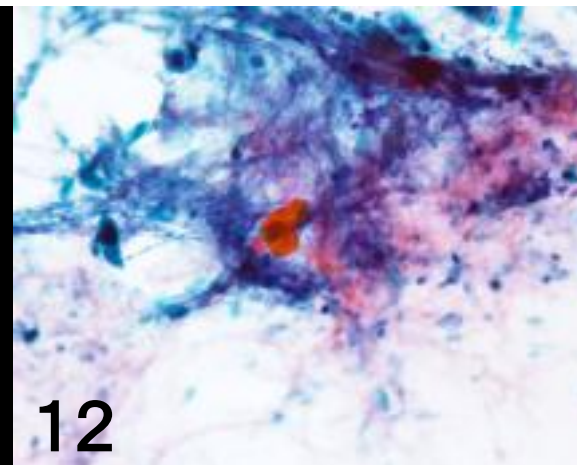
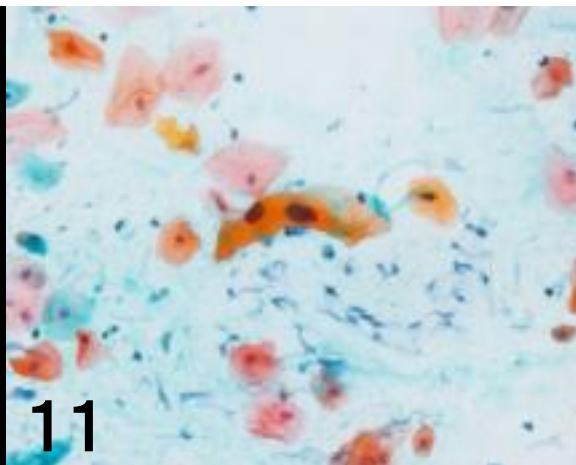
減点

該当施設なし

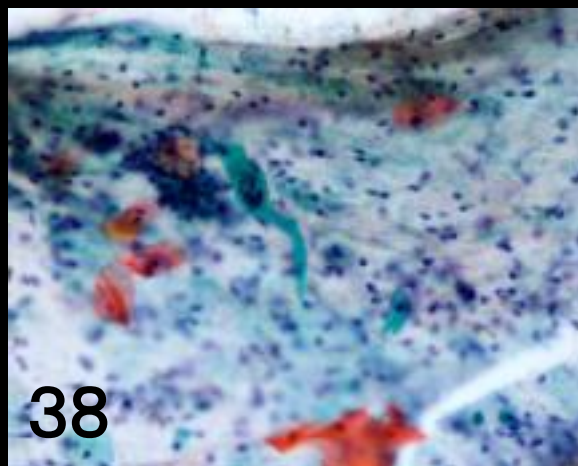
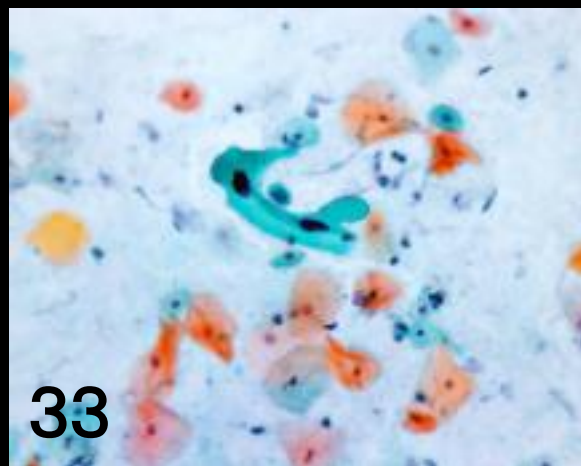
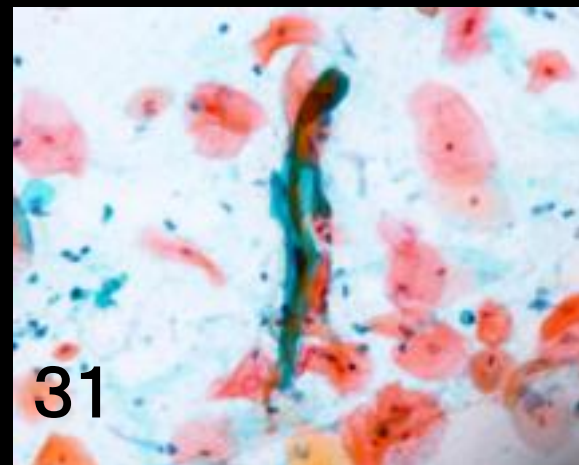
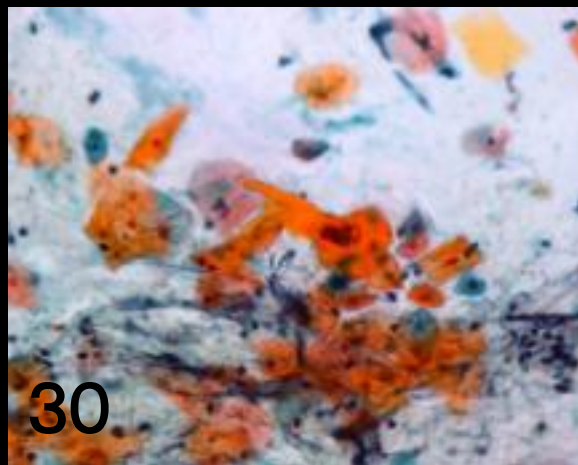
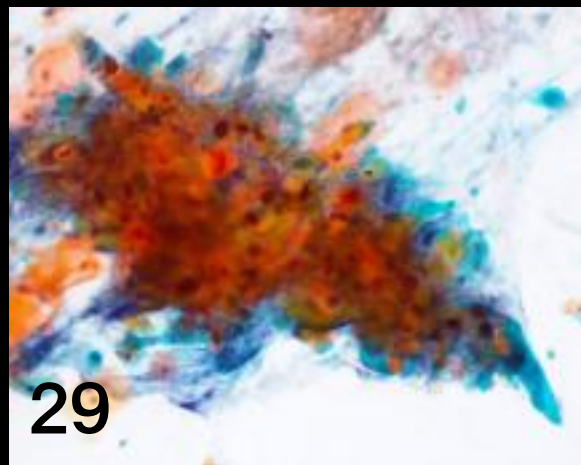
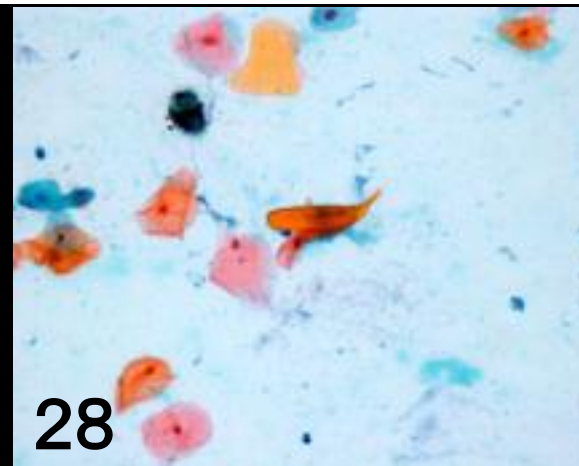
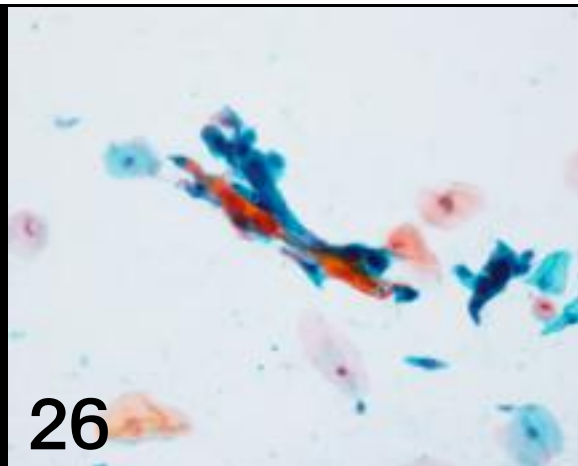
推定組織型
扁平上皮癌
(30施設)



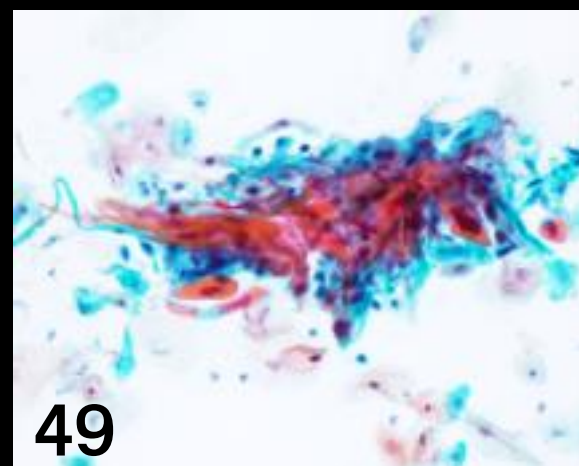
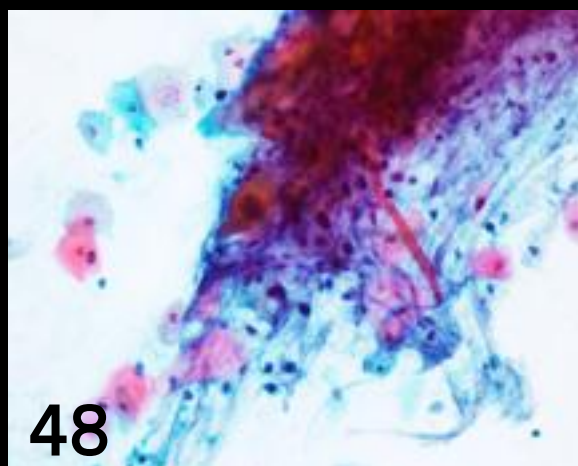
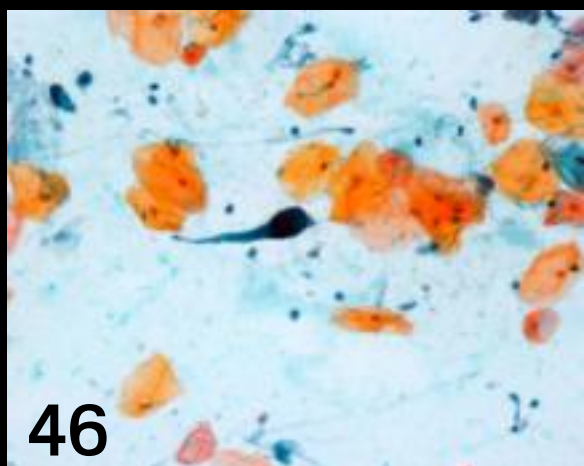
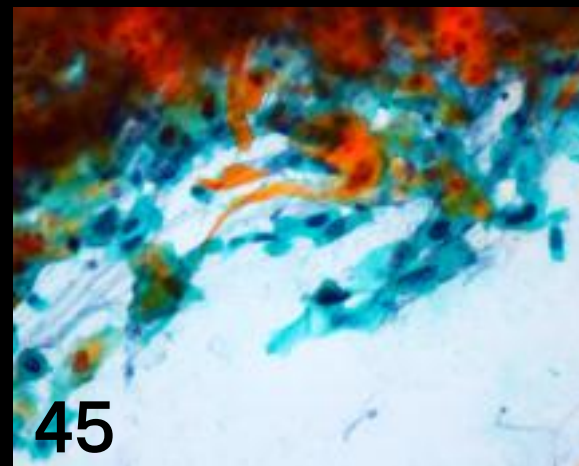
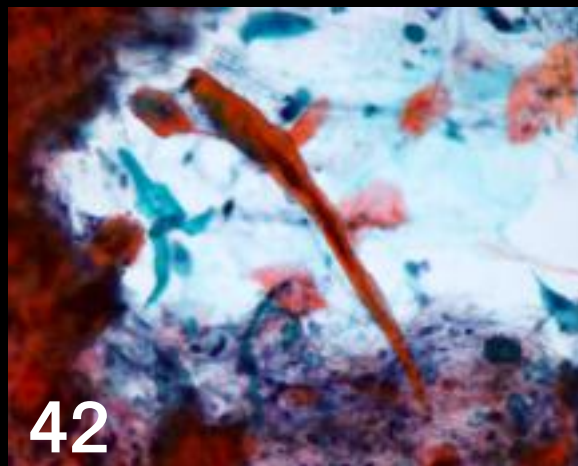
推定組織型
扁平上皮癌
(30施設)



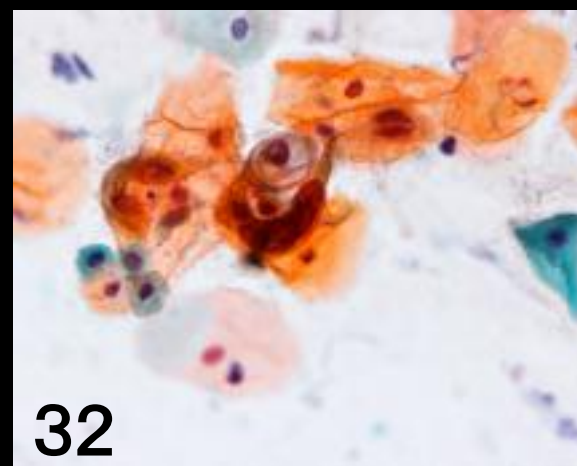
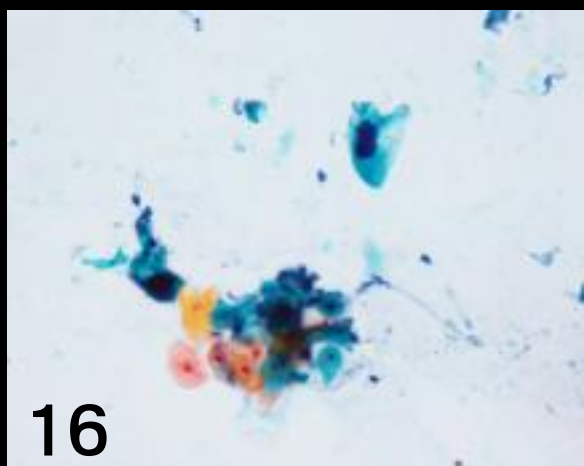
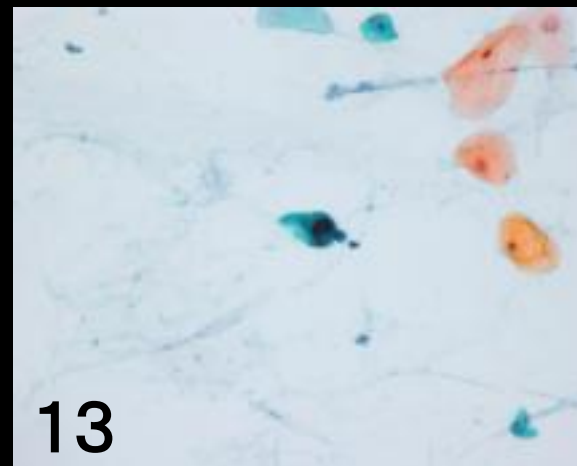
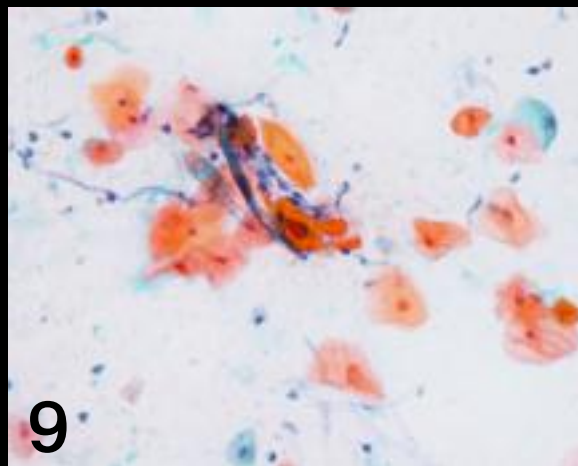
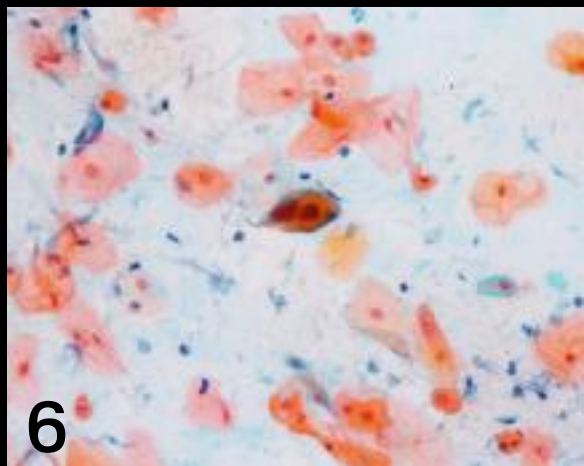
推定組織型
扁平上皮癌
(30施設)



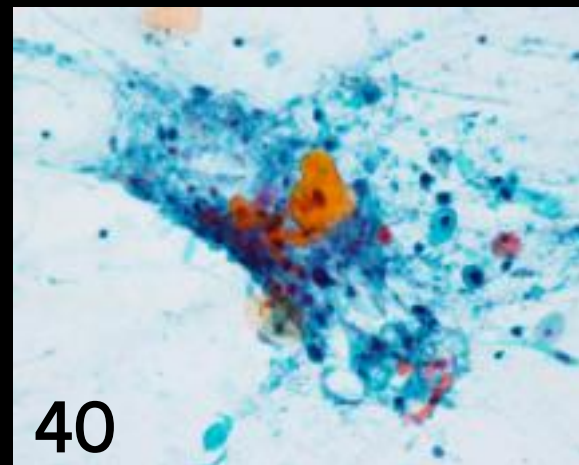
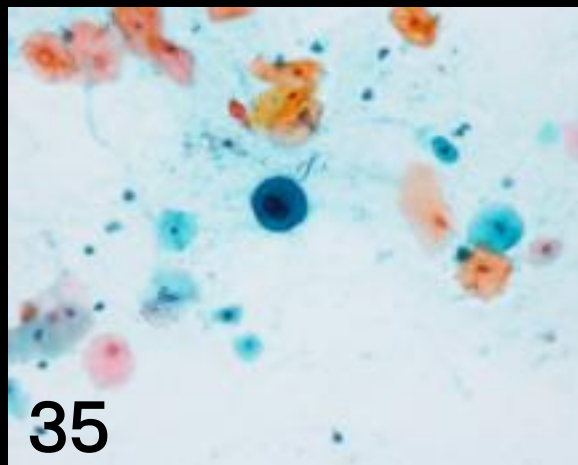
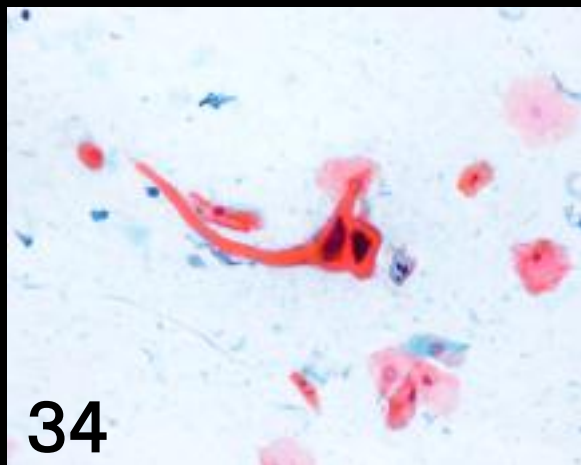
推定組織：扁平上皮癌（30施設）



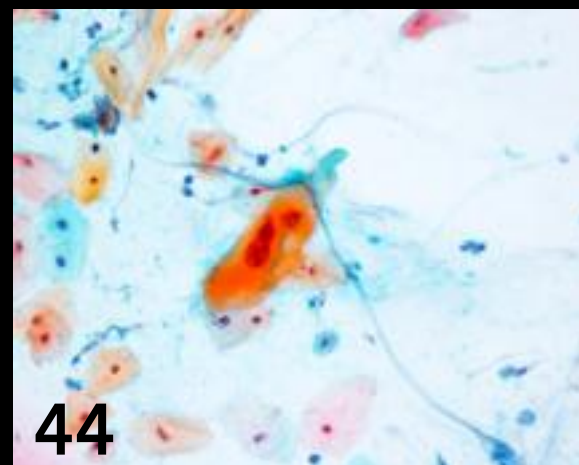
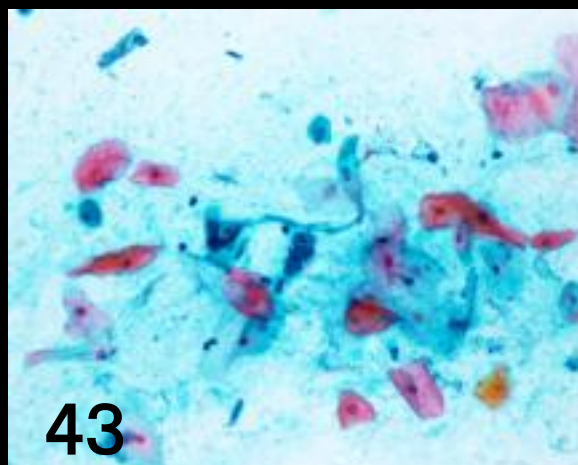
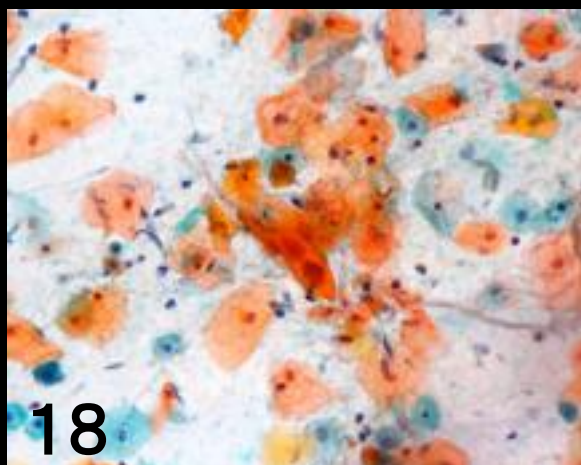
推定組織型：扁平上皮癌疑い（9施設）



推定組織型：扁平上皮癌疑い（9施設）



推定組織型：扁平上皮癌を否定できず（3施設）



細胞判定 考察 まとめ

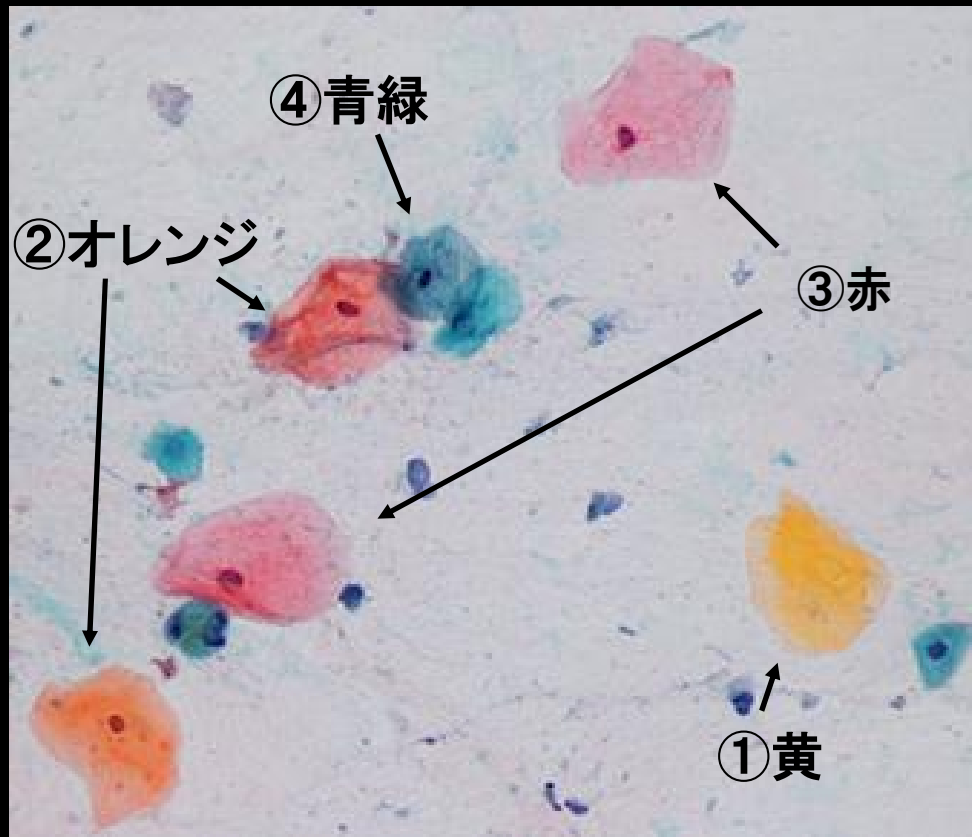
- 配布した喀痰標本は、扁平上皮癌の症例であった
- 配布した喀痰標本に異型細胞の数、細胞異型の強弱にやや偏りを生じたものの全施設で扁平上皮癌、またはそれを示唆するコメントが記載されていた
- 減点となる施設はなく、本症例では診断基準が統一されていた
- 配布した喀痰標本は、変性し核クロマチンが融解状の細胞が多くなってしまったので標本の選定・作製、配布する上での課題と思われた

3. 染色性の評価

42施設の集計

細胞質染色のカウント

標本中の表層型扁平上皮細胞を以下の4種類に分類し1人400個ずつ3人で1200個カウントした。またエオジン優位度^{注)}、①～④それぞれの平均値、標準偏差(SD)を算出し染色性の評価に反映した



注) エオジン優位度

$$\frac{\text{赤の個数}}{\text{黄+オレンジの個数}} \times 100(\%)$$

- ①OG好染細胞(黄)
- ②OG+EO好染細胞(オレンジ)
- ③EO好染細胞(赤)
- ④LG好染細胞(青緑)

評価基準

Papanicolaou染色で用いられる色素、ヘマトキシリン(HE)、オレンジG(OG)、エオジン(EO)、ライトグリーン(LG)の染色性

評価方法

各色素が適正に染色されていること

精度管理委員の鏡検と染色性のカウント集計、エオジン優位度とを併せて評価した

色素は4種類、各2点の合計8点で評価した

減点対象

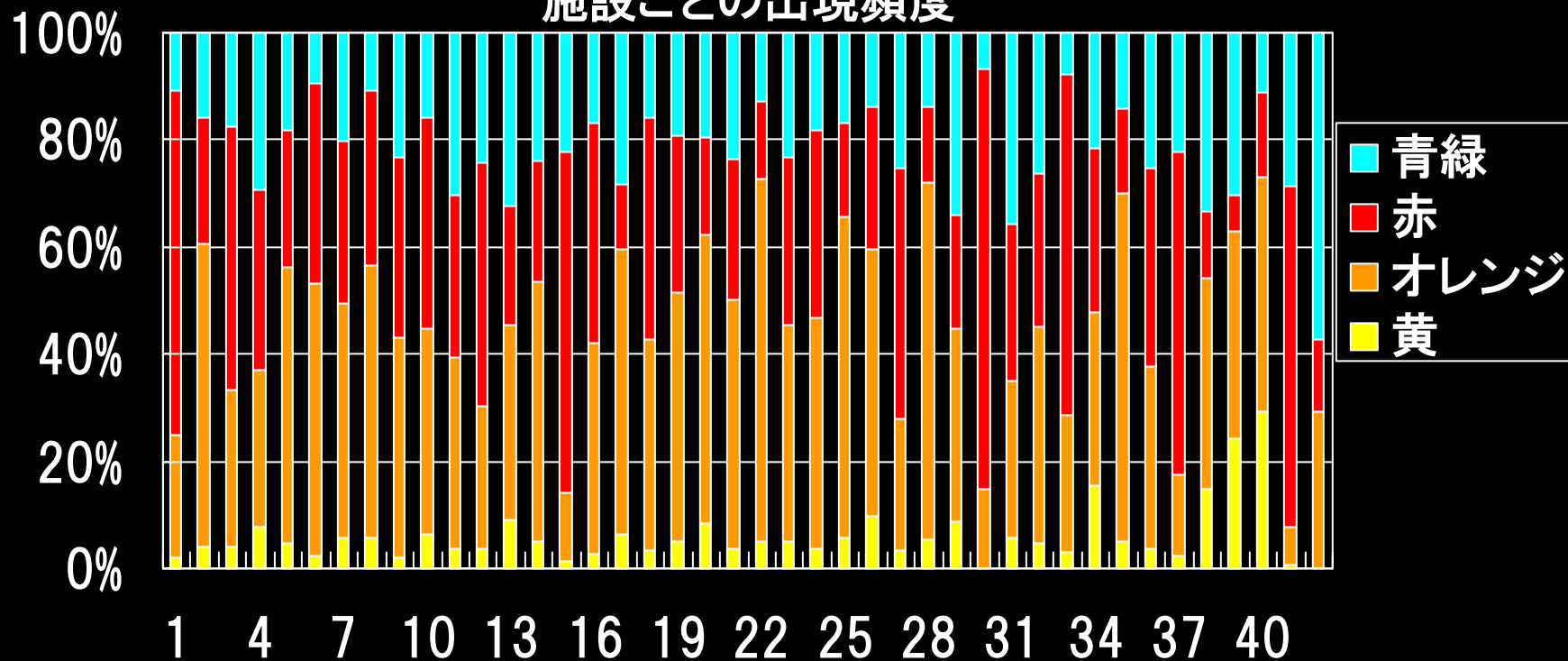
各色素それぞれ(OGについては黄色又はオレンジ色の一方でも該当する場合を含む)について

減点2点：色素を認めない、もしくはほとんどない

減点1点：色素の出現頻度が少ない、または多い。色素が薄い

集計結果

施設ごとの出現頻度



	黄(%)	オレンジ(%)	赤(%)	青緑(%)	エオジン優位度
平均	6.1	39.4	33.0	21.6	117
標準偏差(SD)	5.67	14.13	16.72	9.26	158
平均+2SD	17.4	67.6	66.4	40.1	433
平均-2SD	0>	11.2	0>	3.1	0>

評価結果

8点(満点) : 34施設

減点施設 : 8施設

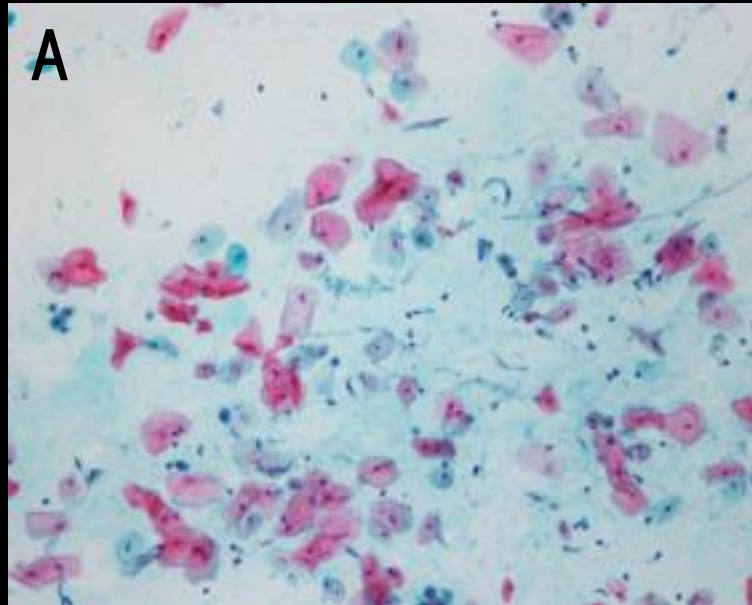
エオジン優位 3施設 (A,B,C)

ライトグリーン優位 1施設 (D)

オレンジG優位(黄色多い) 2施設 (E,F)

色が薄い 色ムラがある 2施設 (G,H)

エオジン優位

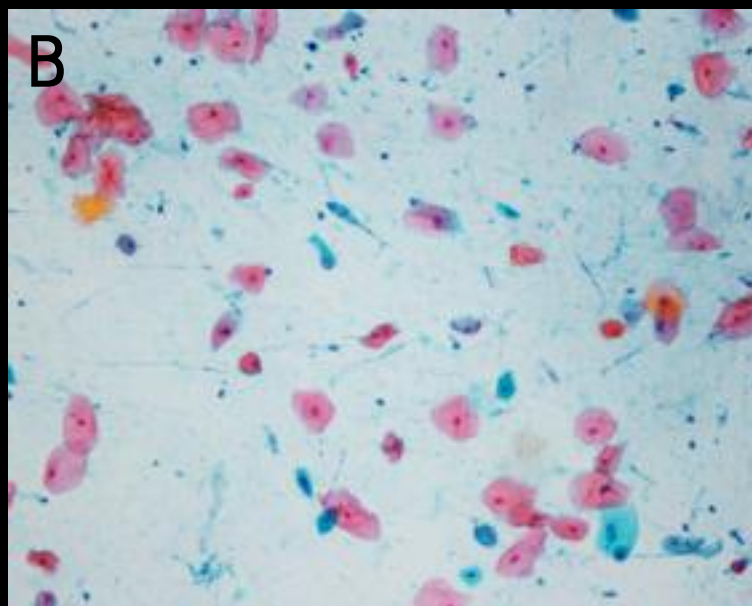


黄	オレンジ	赤	青緑	エオジン 優位度
0.7%	6.9%	63.8%	28.7%	841
				(オレンジの平均-2SD→11.2%)
				(エオジン優位度の平均+2SD→433)

考えられる原因

核の色出し(アンモニアアルコール)後
すぐにOG染色を行う

OG染色液の染色強度:pH2付近で最高
アンモニアアルコール:pH9~10程度

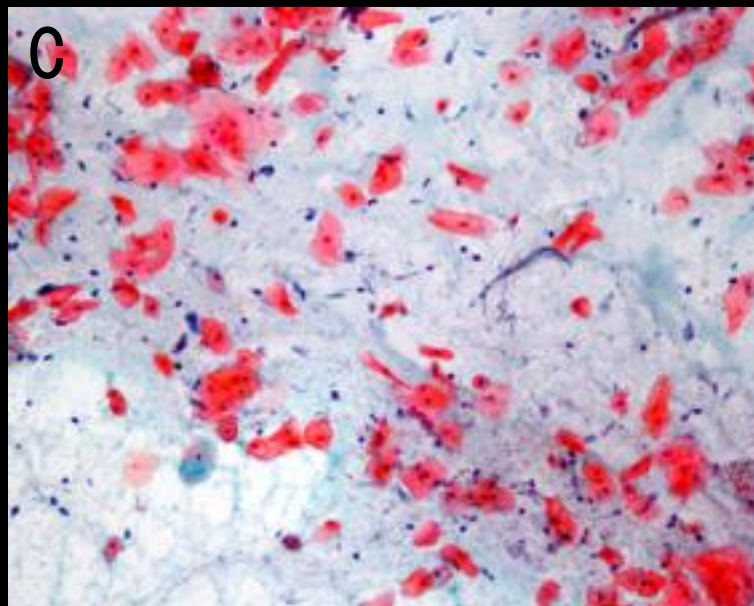


黄	オレンジ	赤	青緑	エオジン 優位度
1.3%	12.7%	63.7%	22.4%	457
				(エオジン優位度の平均+2SDは 433)

考えられる原因

OG染色液前後のアルコールのpHが高い
OG分別用アルコールの水分濃度が高くなっている

エオジン優位

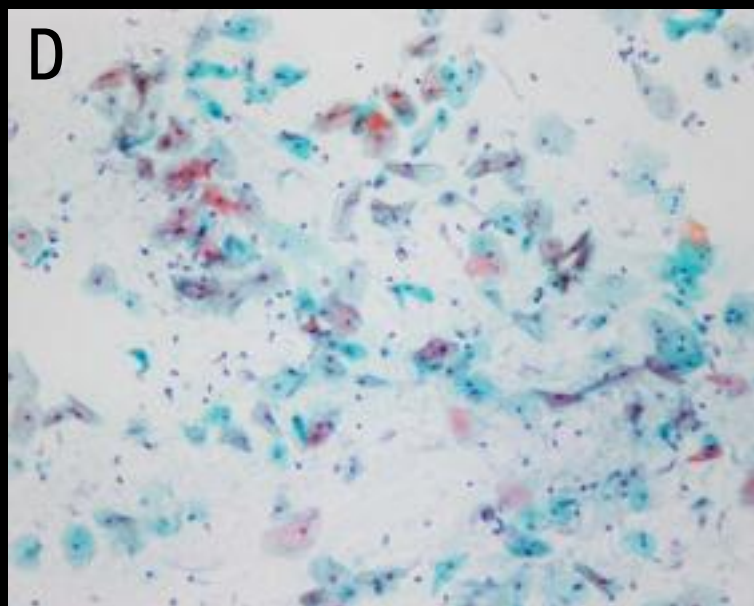


黄	オレンジ	赤	青緑	エオジン 優位度
0.1%	14.8%	78.3%	6.8%	525
(赤の平均+2SD→66.4%)				
(エオジン優位度の平均+2SD→433)				

考えられる原因

OG染色時間が短い(20秒)

ライトグリーン優位

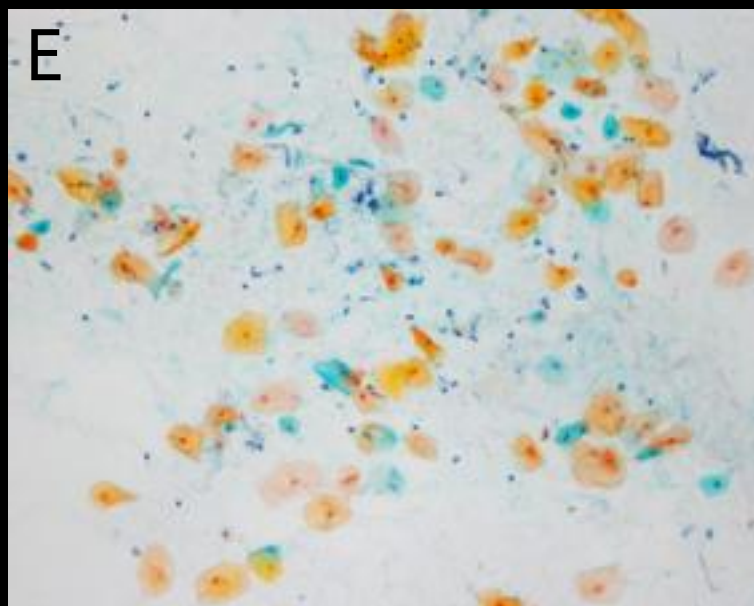


黄	オレンジ	赤	青緑	エオジン 優位度
0.1%	29.1%	13.4%	57.4%	46
(青緑の平均+2SD→40.1%)				

考えられる原因

脱水不良?

オレンジG優位



黄	オレンジ	赤	青緑	エオジン 優位度
24.3%	38.8%	6.6%	30.3%	10
(黄の平均+2SDは 17.4%)				

考えられる原因

リンタングステン酸アルコール効きすぎ



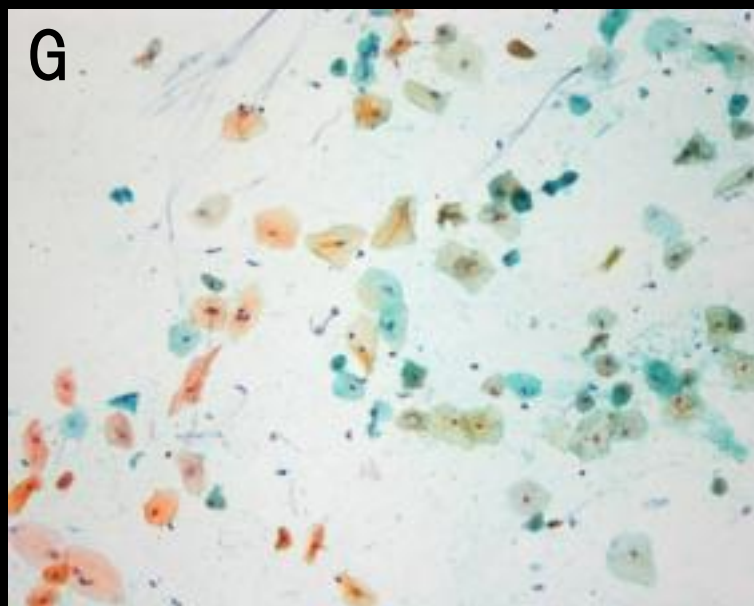
黄	オレンジ	赤	青緑	エオジン 優位度
29.4%	43.5%	15.9%	11.2%	22
(黄の平均+2SDは 17.4%)				

考えられる原因

OG染色時間がやや長い(2分30秒)

OG分別不足(100%AL使用、時間不足?)

染色ムラ

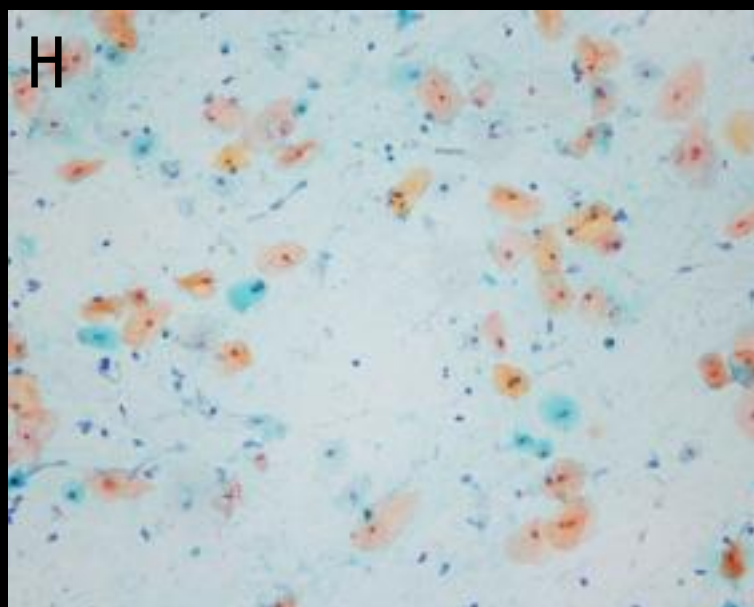


黄	オレンジ	赤	青緑	エオジン 優位度
3.8%	35.5%	30.4%	30.3%	77

考えられる原因

脱水不良?

色が薄い



黄	オレンジ	赤	青緑	エオジン 優位度
14.8%	39.3%	12.5%	33.4%	23

考えられる原因

染色液の継ぎ足し

染色性の評価 考察 まとめ

- 核染色に関して染色液の濃度や染色時間、分別法に違いはあるものの減点となる施設はなかった
- 染色性の評価は精度管理委員の鏡検、扁平上皮細胞のカウント数とともにエオジン優位度や標準偏差を用いより客観性を持たせた
- 減点となった一因として染色系列のpHが染色性に影響を及ぼしたと考えられたため、日頃から試薬の管理とともにpHも意識しておく必要があると感じた

Papanicolaou染色における細胞質染色の色味を変える手技の検討

目的：各施設におけるPapanicolaou染色性は様々で同一染色液、同一時間で染めても同じ染色性を示さない中、染色性の向上や標準化を考える上でどのような手技がどの程度有効かについてアンケートの回答をもとに検討を行った

オレンジG優位に変える手技

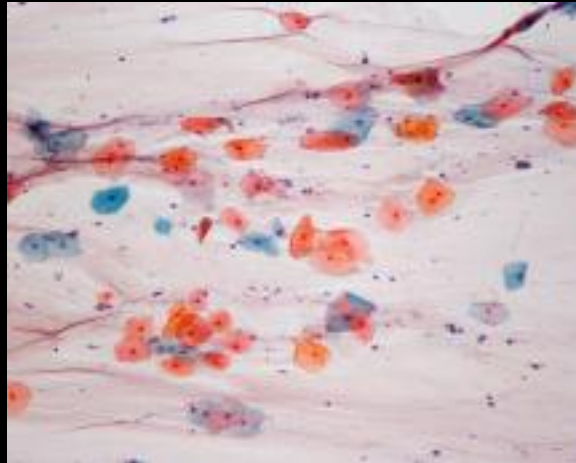
- ①OG染色後に1%リタングステン酸アルコールの使用(分別抑制)
- ②OG染色液の浸漬時間の延長(1分→3分)

エオジン優位に変える手技

- ①OG染色液の浸漬時間の短縮(1分→30秒)
- ②OG染色後に0.025%アンモニアアルコールの使用(分別促進)
- ③OG染色後の分別用アルコールの濃度を下げる(95%→70%)
- ④OG染色後の分別用アルコールの浸漬時間の延長(1分3槽→3分3槽)
- ⑤EA染色液の浸漬時間の延長(4分→8分)

結果

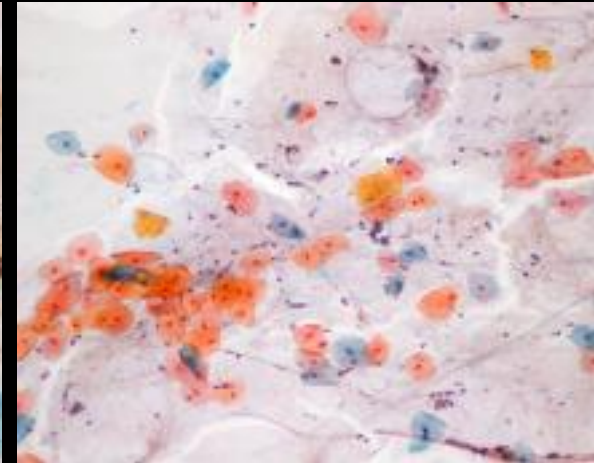
コントロール
OG-6 1分、EA-50 4分



①



②



OG優位に変える手技

効果

特徴

①リントングステン酸AL使用

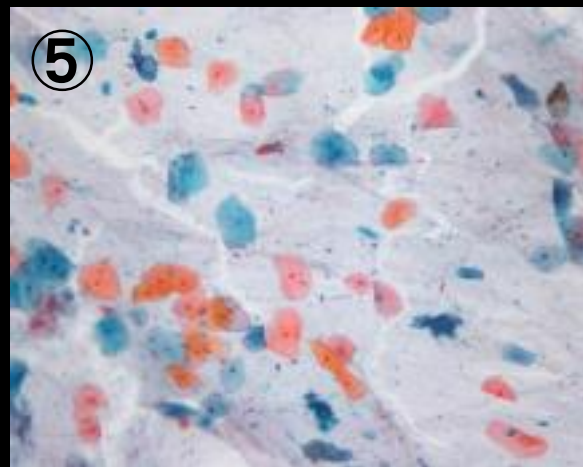
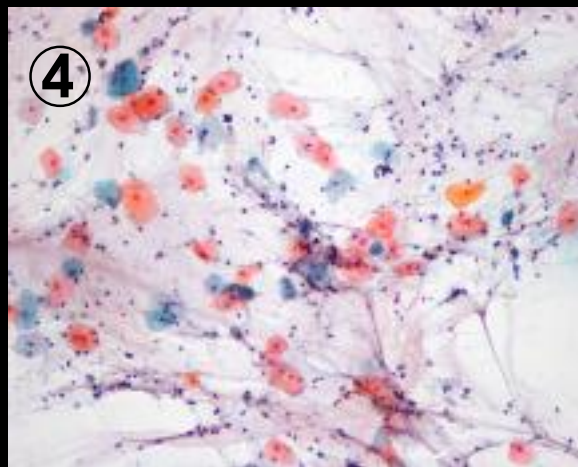
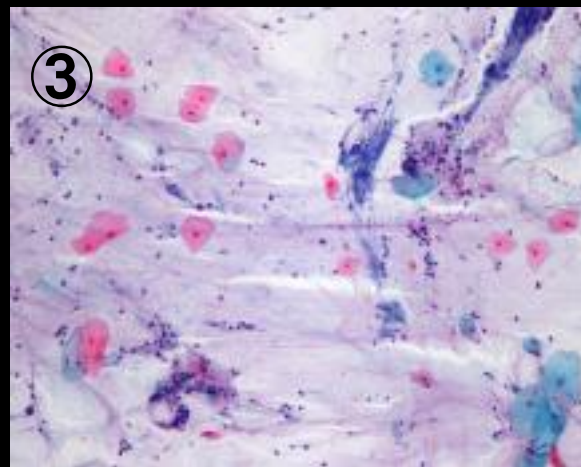
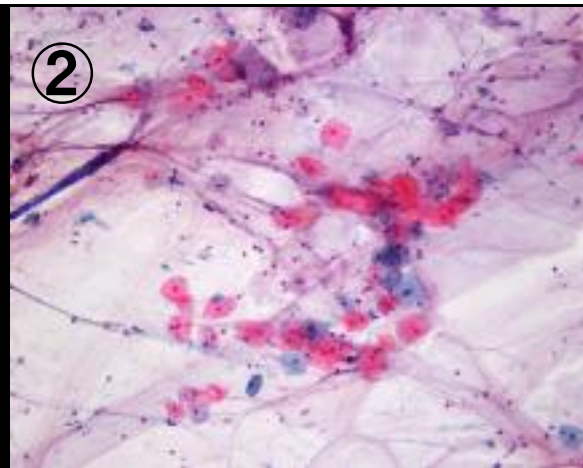
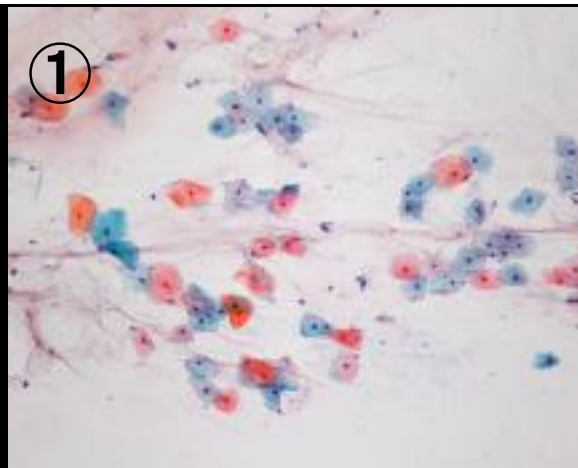
強

黄・青緑の増加、赤の減少

②OG染色液の浸漬時間の延長

弱

黄色味の上昇



エオジン優位に変える手技

効果

特徴

①OG染色液の浸漬時間の短縮

中

赤みが増す、OGの色が薄い

②分別にアンモニアアルコールの使用

強

エオジン優位になる

③分別用アルコールの濃度を下げる

強

エオジン優位になる

④分別用アルコールの浸漬時間の延長

弱

黄、オレンジの色が薄くなる

⑤EA染色液の浸漬時間の延長

弱

赤みが増す

市販のOG、EA染色液を変えることによる効果

OG染色液

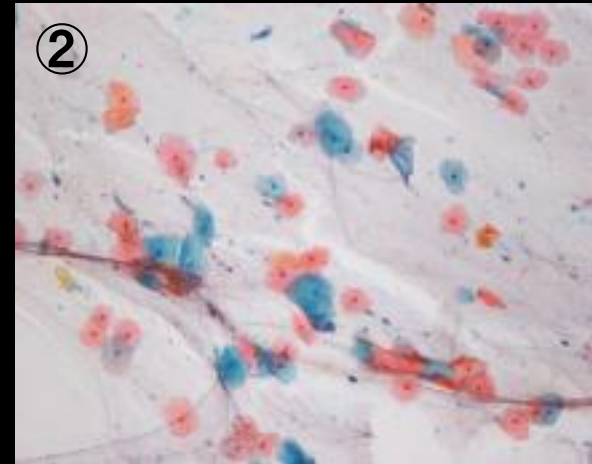
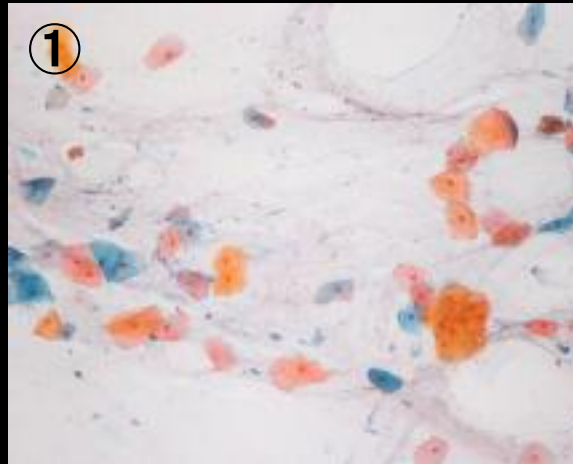
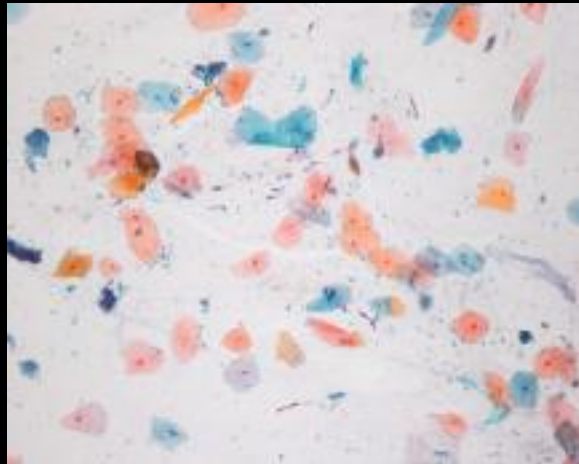
- ①色素溶解性を高める溶剤が添加されたOGの使用
- ②オレンジG含有量は同じでその他の組成が異なるOGの使用

EA染色液

- ①色素溶解性を高める溶剤が添加されたEAの使用
- ②エオジンY含有量がEA-50より(1g)高いEAの使用
- ③エオジンY、ライトグリーンイエロー、ビスマルクブラウン含有量がEA-50よりそれぞれ(0.7g、0.3g、0.3g)高いEAの使用
- ④ライトグリーンイエロー含有量の高いEAの使用

結果

コントロール



OG

効果

特徴

①色素溶解性を高める溶剤が添加されたOG

微

コントラスト↑

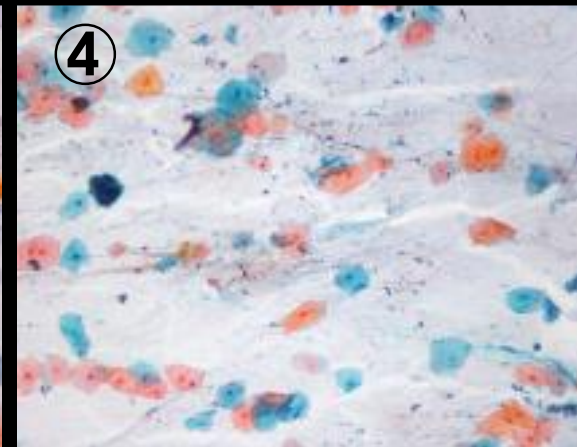
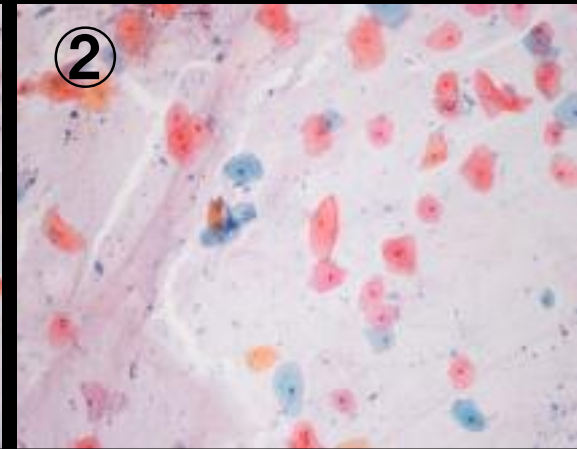
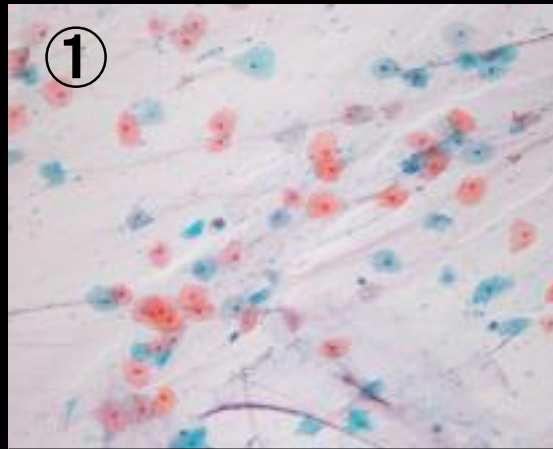
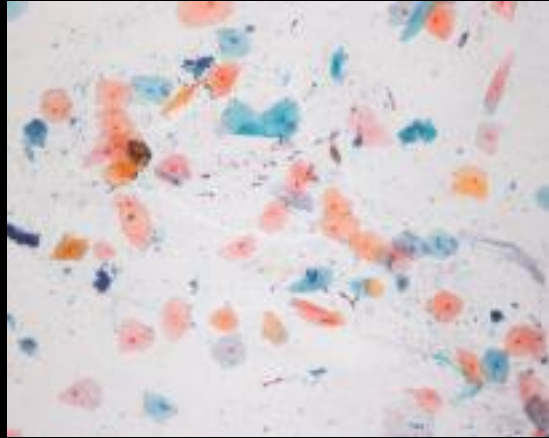
②オレンジG含有量は同じで他の組成が異なるOG

弱

赤み↑

結果

コントロール



EA

効果

特徴

①色素溶解性を高める溶剤が添加されたEA

弱

赤味 ↑

②エオジンY含有量が高いEA

強

赤味 ↑ 背景赤味

③エオジンY、ライトグリーンイエロー、ビスマルク
ブラウン含有量がそれぞれ高いEA

微

色味の変化

④ライトグリーンイエロー含有量の高いEA

強

青緑 ↑ 背景緑味

考察

- 細胞質染色の色味を変える手技は、それぞれ効果の大小はあるものの一定の効果を得られた
- 今回の検討は自施設の1部分を変更して行った検討であるため様々な手技の組み合わせや濃度、時間の調整でより良い効果が生まれる可能性がある

総括

3年続けてPapanicolaou染色性の評価を行った。その間、染色液の継ぎ足しを行う施設が減少するなど一定の成果が得られた

「Papanicolaou染色性の良い標本」が厳密に決められていない現在、精度管理において染色性の良し悪しをを判定することは難しいが、各施設が自施設の染色の特性を知り必要とあれば調整していく一助になればと感じた

千臨技細胞診検査研究班精度管理委員（五十音順）

有田茂実	（千葉県こども病院）	班長
岩崎聖二	（国立がんセンター東病院）	
北村 真	（東邦大学医療センター佐倉病院）	
須藤一久	（千葉県立佐原病院）	副班長
仙波利寿	（千葉大学医学部附属病院）	
曾川紀子	（千葉大学医学部附属病院）	
時田和也	（JFE健康保険組合川鉄千葉病院）	
永澤友美	（（株）江東微生物研究所千葉支所）	
村田行則	（国立国際医療研究センター国府台病院）	副班長
渡邊孝子	（帝京大学ちば総合医療センター）	