

術中迅速乳腺断端標本における切片剥離の一考察

◎西川 武¹⁾、渡邊 拓也¹⁾、東 千陽¹⁾、龍見 重信¹⁾、鈴木 久恵¹⁾、福井 義雅¹⁾、田中 京子¹⁾、田中 忍¹⁾
奈良県立医科大学附属病院¹⁾

術中迅速における標本は、提出された検体を未固定のまま凍結を行い迅速HE標本の作成が行われる。これより作成された標本は、迅速かつ高品質でなければ、適切な術中病理診断が得られない。しかし、実際の標本作成過程においては様々なアーチファクトが生じ、標本作成に苦慮する事も多い。これに対し、迅速HE標本作成におけるアーチファクトの対応策として、スタレ状の切片のわれについては過冷却が原因とされ、少しブロックを温めることで対応する。脂肪組織など切片採取不良については、検体に応じた適切なブロックおよび庫内薄切温度の管理を行なう事など、一般的な基礎技術として示されている。しかし一方では、対応策が具体的に示されておらず、回避が不可能なアーチファクトも存在する。その一つとして、切片の剥離があげられる。切片の剥離は、乳腺断端などの脂肪成分、線維性組織、或いは筋組織などの標本に多く見られ、迅速染色時にスライドガラスより標本が剥離することが経験される。また、剥離の見られた標本は、再作成においても剥離が見られ、品質の高

い標本作成が困難となることが多い。

以前に我々は、剥離の見られた標本に対し、剥離防止に対する検討として、①テルジスキー固定液（80%エタノール 20：酢酸 1：ホルマリン 2）により固定する液状固定法、②切片を乾燥させる乾燥法、③切片を乾燥後に生理食塩水にて再水和を行う再水和法、④細胞診剥離防止剤を噴霧、乾燥させるスプレー法の4種類の固定法を用いて、迅速HE染色を施行し比較検討を行った。その結果、①では切片の剥離が見られたが、②③④では切片の剥離は見られなかった。また、HE染色性については、①②③に比し④の方法では剥離防止効果に加え、HE染色性の染色性及びコントラストが十分に得られ、診断に耐えうる標本の作成が可能であった。そこで今回、若干の追加検討を行い、切片剥離のメカニズムについての一考察を報告する。(0744-22-3051)

病理・細胞診分野の学術・検討ツールについて

～当院病理部の経験より～

◎龍見 重信¹⁾、西川 武¹⁾、東 千陽¹⁾、渡邊 拓也¹⁾、鈴木 久恵¹⁾、竹内 真央¹⁾、田中 京子¹⁾、田中 忍¹⁾
奈良県立医科大学附属病院¹⁾

【はじめに】

病理および細胞診分野の学術や検討においては、染色の色調や標本の出来映えの比較、細胞数等の算定などの比較検討方法は多岐に渡る。しかし、どの検討を行うにあたって、どのように評価をするべきかその選択に苦慮する場合がある。また評価するにあたっては時間や労力を要することが多く、学術や検討になかなか踏み出せないことも多いのではないかと考えられる。しかし、実際には多少の知識を得ることで、検討がスムーズになり、その結果、新しい知見が得られることで、学術の楽しさや充実感を得られることも少なくない。このような経験を積むことで、知識を増やし、少しでも時間や労力を減らしつつ、充実した研究や検討を行うことが大切である。そこで、今回我々が日常で使用する画像解析、統計解析ならびに画像編集ツールについて、当院の経験を報告する。

【材料および方法】

当院病理部で行ってきた病理および細胞診分野の検討

を対象とした。画像解析ツールは Image J、統計解析ツールは EZR、画像編集ツールは GIMP を用いた。

【結果】

多少の知識を元に、ツールを用いることで、解析や統計処理が行え、時間や労力の減少につながった。

【考察】

これらのツールは無料で使用することができ、また、様々な検討で用いることができる。したがって、学術や検討において、これらのツールは有用であり、負担の軽減につながると考えられた。当日、是非覚えていただきたい多少の知識を提示し、当院での活用法について報告する。(0744-22-3051)

当院の病理検体における DNA Integrity Number を用いた核酸品質の検討

◎山口 直則¹⁾、松居 由香¹⁾
綾部市立病院 医療技術部 臨床検査科病理¹⁾

【はじめに】がんゲノム診断において病理検体の品質管理は重要であり、パネル検査ではより厳格な品質管理が要求される。検体の大部分はホルマリン固定パラフィン包埋 (formalin-fixed paraffin-embedded : FFPE) 検体を用いられる。今回、当院のプロトコルにより作製された FFPE 検体がゲノム診断の利用に耐えうる一定水準以上の品質を保持しているかについて検討したので報告する。

【対象・方法】対象1は2019年1月以降に肺癌にて外科的切除された18例のFFPE検体を用いた。対象2は肺癌にて外科的切除され、保管期間が1~5年の計25例のFFPE検体とそのうち保管が確認できた10例のゲノムDNA (gDNA) を用いた。対象3は2019年3月以降に肺腫瘍にて外科的切除された10例のFFPE検体を用いた。方法は、当院のプロトコルで作製したFFPE検体からgDNAを抽出し、DNA Integrity Number (DIN) を測定した。測定にはアジレント・テクノロジー社のTapeStation 4150システムを使用した。FFPE検体の核酸品質を評価するとともに、固定時間、保管期間、保管検体種別なら

びに冷虚血時間等が与える影響について検討した。統計学的検定はwelch-t検定を行い、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

【結果】対象1のDINは6.8~5.4 (平均6.35) と高値を示し、良質な核酸品質を有していた。固定時間においては一定の相関がみられ、固定時間が長くなると低下する傾向がみられた。対象2、保管期間においては経年的に低下する傾向がみられ、1~3年群と4~5年群では有意差がみられた。保存検体種においては、FFPE検体はgDNA検体に対して有意に低下していた。対象3、摘出後6時間までの冷虚血時間においては大きな影響はなかった。

【まとめ】当院のプロトコルで作製されたFFPE検体は一定水準以上の核酸品質を保持していた。核酸品質保持には、各施設におけるプレアナリシス段階での影響を十分に把握することが重要である。引き続き、作業プロセスの充実を図り、検体品質の精度向上に努めていきたいと考える。

連絡先—0773-43-0123

医療安全の視点に立ったヒューマンエラー防止のための病理検査室での取り組みについて

◎菅原 眞由美¹⁾、九十九 昭恵¹⁾、宮下 奈都美¹⁾、三村 麻美¹⁾、近藤 綾美¹⁾
株式会社 互恵会 大阪回生病院¹⁾

【はじめに】

臨床検査は患者の治療に深く関係があり、患者に対して不利益のないよう注意を払って業務を行っているが、様々な対策を施しても医療事故はやはり起きている。今回、当院の病理検査室で取り組んでいる医療安全の視点にたったヒューマンエラー防止対策について紹介する。

【詳細】

エラー対策としては環境に対する対策と、個人やチームなど人に対する対策がある。環境への対策として、人為的行為を排除しやめる・物理的制約を行いきないようすることを目的に電子カルテや部門システムの導入、バーコード管理を行うなどの機械化を進めている。また、整理整頓を行い、業務をやりやすくすることで身体的負担の軽減を、各種指示カードの使用や色を使い分けるなどわかりやすくすることで認知的負担の減少をはかっている。人に対する対策として、自己能力の把握や休息をとらせる事で基準感覚を維持し、TBM や KYT を行って情報を共有化しエラーの認知・予測に努めている。業務

で疑問を感じたら一旦やめるなど安全を優先する心がけや、エラーを自身で気づけるよう指差し呼称やダブルチェックなども行っているが、これらの気づきには、個人の能力の維持が必要である。また、病理検査室内で使用しているヒヤリハット報告からエラーを検出し業務改善にも取り組んでいる。エラーが発生した場合の機器の取説や連絡先の整理、臨床からの協力など環境緩和に対する備えも不可欠と考える。チームとしての対策では挨拶というコミュニケーションツールを最も大切にしている。良好な人間関係なくしてエラー対策は困難である。

【最後に】

理にかなった対策を行う事は簡単そうに見えて実は非常に難しく、環境要因、人的要因が異なってくるとエラー対策も異なることから、各施設の業務に見合ったヒューマンエラー対策を行う必要がある。また立案した対策がきちんと行われているか検証するなど PDCA サイクルを回すことも重要であると考えます。

大阪回生病院 病理検査室 06-6393-6234 (内線 3021)

病理システム導入による精度管理の向上

◎紙谷 知子¹⁾、稲垣 充也¹⁾、口広 智一¹⁾
公立那賀病院¹⁾

【はじめに】

病理診断はこれまで「最終診断」とされ、医療に深く関わってきた。そのため、病理検体の取り違いや報告書の間違いなどがあると患者の治療そのものに大きな影響を及ぼし、それらの間違いはあってはならないことである。

しかし、病理検査は手作業が多い検査であるため、病理システムを導入し、バーコード運用など行うことが間違いを減らすために有用な方法であるとされている。

昨年4月に当院でも病理システムが導入され、その結果精度管理がどれだけ向上したかを検証した。また、特に間違いの多い検体処理作業を安価に記録する方法を構築したので報告する。

【精度管理の現状】

病理検査も他の臨床検査と同様に、外部精度管理と内部精度管理が実施されてきた。

また、平成29年に公布された「医療法等の一部を改正する法律」において安全で適切な医療提供の確保を推進するため、検体検査の精度の確保が義務づけられた。

【病理システム導入前後の比較】

1) 病理システムと同時にスライドガラスや包埋カセットのプリンターも導入し、手作業を減らしてバーコード運用するようにした。

2) 特に検体の取り違いが多い検体処理と包埋作業を動画で記録し、作業後も間違いがなかったかを確認できるようにした。

3) 結果入力後、電子カルテですぐに参照可能となった。連携先の和歌山県立医科大学附属病院にも端末を一台設置しており、医大で入力された結果もすぐに参照できるようになった。

【結語】

病理システム導入や動画での作業記録などにより、病理検査の精度管理が向上した。

今後も質の高い標本作製することはもちろん、検体の取り間違いを防ぐため作業の自動化や見直しなどに取り組んでいきたい。

連絡先：0736-77-2019（内線1270）

免疫組織化学染色における counterstain(Giemsa 染色) での分別法の検討

◎武内 綾菜¹⁾、永井 宏和¹⁾、吉井 輝子¹⁾、杉山 絵美¹⁾、淡路 有恵¹⁾、山本 枝里子¹⁾、松崎 生笛²⁾、木下 勇一¹⁾
公立大学法人 和歌山県立医科大学附属病院¹⁾、公立大学法人 和歌山県立医科大学²⁾

【はじめに】Melanoma の免疫組織化学染色において、メラニン色素が DAB の色調に類似し、陽性反応と紛らわしいことがしばしば見られる。その場合、counterstain として Giemsa 染色を用いることで、メラニン色素が異染性を示し、陽性反応は褐色、メラニン色素は緑色に染め分けることができる。今回我々は、melanoma の免疫組織化学染色における counterstain としての Giemsa 染色の分別法を検討したので報告する。

【対象と方法】対象は、「melanoma」と診断のついた切除標本のうち、メラニン顆粒量の多いもの、少ないもの、その中間のものを各 1 症例ずつである。方法は 2% Giemsa 液で 30 分染色後、分別法として①流水水洗、②0.5%酢酸水 3dip、③アセトン 10dip とし、分別を行った。また、Giemsa 染色時間による変化を確認するため、④1 分、⑤5 分、⑥10 分で染色し、比較検討を行った。尚、分別法はアセトンを使用した。

【結果】①流水水洗、②0.5%酢酸水での分別は、核が青色でメラニンが異染性（緑色）を示したが、間質や上皮

などがピンクに染まり、DAB の陽性反応である褐色とやや近いコントラストとなった。③のアセトンでの分別法は、核や間質および上皮でも青～青紫色となり、DAB の褐色と明瞭に区別することができた。Giemsa 染色時間の変化については、全ての染色時間においてメラニンが異染性（緑色）を示したが、染色時間が短いほど counterstain としての核染色やその他の背景が薄く、DAB の褐色とのコントラストが弱くなった。

【考察・まとめ】通常の Giemsa 染色では結合組織がピンクになるなど分別によるコントラストが診断に有用となるが、免疫組織化学染色の counterstain では青～青紫色を残すことにより、DAB の陽性反応と明瞭に区別することが可能であると考えられた。そのことより、アセトンは流水水洗や酢酸に比べて、分別作用が軽度であるが、counterstain には有用であると考えられた。Melanoma の免疫組織化学染色において、従来から行われている漂白法やアルカリホスファターゼによる赤発色などとの検討を含めて、本法の有用性と欠点について提示したい。

アザン染色におけるアゾカルミンG染色試薬の試薬間差

◎堀口 紗央里¹⁾、安達 博成¹⁾、喜多 美遊¹⁾、中谷 美智¹⁾、西川 武²⁾、小西 登¹⁾
社会医療法人 高国会 高井病院¹⁾、奈良県立医科大学附属病院²⁾

近年、認定病理検査技師精度が設立され、その要求事項の一つに“標準化された精度の高い病理標本作製技術”が求められており、技術や知識の統一が技師側での精度管理の第一歩であるとの考えより、染色における精度管理の新しい考え方“全ての施設が、管理された試薬を用いて同じ工程で染色を行えば、同一の染色結果が得られる”ことが言われている。

アザン染色においては、発がん性物質である六価クロム化合物の使用を避けるため、龍見らは、アゾカルミンGの溶解溶剤に飽和ピクリン酸を使用することで、短時間で良好な染色結果が得られるとしている。しかし、当院において同様の染色を行った結果、良好な染色結果は得られなかった。本案件より、自家調整試薬における染色の差異を検討した結果、若干の知見を得たので報告する。

方法：10%中性緩衝ホルマリン固定を施した肝臓の手術症例を用いた。アザン染色は、媒染剤工程を①媒染剤として飽和ピクリン酸水溶液を用い、その後アゾカルミン

Gで染色②アゾカルミンGの溶解溶液に飽和ピクリン酸水溶液を用いた染色液を用いて染色、いずれかを行った後、5%燐タングステン酸、アニリン青・オレンジGの工程を行った。また使用試薬として、アゾカルミンGは①クローマ ②メルク ③シグマ、合計3種類を使用した。

結果：①の試薬の使用は、染色工程にかかわらず膠原線維はアニリン青、細胞質はアゾカルミンGに染色され良好な染色結果が得られたが、②③の試薬の使用は、染色工程にかかわらずアゾカルミンGの染色性が不良であった。

考察：今回の結果より、施設間差の一要因として染色試薬の発売元による差異が考えられた。追加検討として、lot間差についても報告する。(0743-65-0372)