

渡辺の鍍銀染色における各染色液の濃度が染色性に及ぼす影響

◎清水 雅¹⁾、龍見 重信¹⁾、竹内 真央¹⁾、鈴木 久恵¹⁾、田邊 雅世¹⁾、奥田 千尋¹⁾、北畠 良高¹⁾、大西 雅人¹⁾
奈良県立医科大学附属病院¹⁾

【背景】渡辺の鍍銀染色は、細網線維を選択的に黒色に染め出すことが重要である。しかし、染色液の調製が煩雑で染色工程も多いため、精度管理の難しい染色法の一つである。そこで今回、各染色工程の濃度変化による染色性への影響について検討した。

【材料および方法】2025年1月から12月に摘出された肝臓3例および脾臓3例のホルマリン固定パラフィン包埋ブロックを作製し、組織切片自動作製装置AS-410M（大日本精機）を用いて8 μ m厚に薄切した。染色は、0.5%過マンガン酸カリウム水溶液5分、2%シュウ酸水溶液2分、2%鉄ミョウバン水溶液1分、アンモニア銀液（アンモニア700 μ L）5分、100%エタノール1秒、還元液（ホルマリン0.5mL）1分、0.2%塩化金液（武藤化学）40分、5倍希釈写真用酸性硬膜定着液（武藤化学）30秒をコントロール条件とした。各工程について、過マンガン酸カリウム（0.05%、5%）、シュウ酸（0.4%、10%）、鉄ミョウバン（0.4%、10%）、アンモニア銀液（アンモニア350 μ L、1400 μ L）、エタノール（蒸留水：0%）、還元液（ホルマリン0.25mL、1.0mL）、

塩化金液（0.04%）、定着液（25倍希釈、原液）に濃度調整し、染色性を比較した。

【結果】過マンガン酸カリウムでは、濃度低下により共染が促進された。シュウ酸および鉄ミョウバンでは、濃度による明らかな変化は見られなかった。アンモニア銀液では、アンモニア量が減少すると共染が促進され、膠原線維の赤みが強調された。エタノールを蒸留水に変更した場合、細網線維の描出力は低下し、細網線維および膠原線維は黒い顆粒状を呈した。還元液では、ホルマリン量の減少により共染が抑制された。塩化金液では、濃度低下により共染が促進された。定着液では、濃度による明らかな変化は見られなかった。

【考察】過マンガン酸カリウム、アンモニア、エタノール、ホルマリンおよび塩化金液の濃度は染色性に大きく影響したため、精度管理上、特に重要な工程であると考えられた。これらより、染色不良時の原因究明および改善の一助となる可能性が示唆された。

連絡先：0744-22-3051（内線 4303）

水の混入によるヘマトキシリン溶液の染色性への影響に関する検討

◎北畠 良高¹⁾、龍見 重信¹⁾、竹内 真央¹⁾、鈴木 久恵¹⁾、田川 千幸¹⁾、清水 雅¹⁾、小川 祥可¹⁾、大西 雅人¹⁾
奈良県立医科大学附属病院¹⁾

[背景]ヘマトキシリン・エオジン（以下、HE）染色は病理組織診断において最も基本的な染色であり、精度管理においてはヘマトキシリンによる共染の防止が重要である。共染の要因の1つとして、ヘマトキシリン溶液（以下、H溶液）への水の持ち越しによる劣化がある。そこで今回、H溶液に水が混入することで生じる染色性への影響について検討したので報告する。

[材料および方法]2023年4月から2024年10月までの期間に摘出手術された大腸、胃、肝臓、腎臓、肺および扁桃のホルマリン固定パラフィン包埋ブロックを作製し、組織切片自動作製装置AS-410M(株式会社大日本精機)により4 μ mの厚さで薄切した。HE染色において、H溶液10分、分別ありとし、H溶液には、マイヤーのヘマトキシリン溶液（以下、MH）（武藤化学）、リリー・マイヤーのヘマトキシリン溶液（以下、LMH）（武藤化学）、ギルのヘマトキシリン溶液（以下、GH）（武藤化学）を用い、水道水（含有率：0、1、20、40、60%）を混合した濃度系列を作製した。また、共染が認められた濃度を元に、蒸留水（含有率：40、

60%）を混合した濃度系列も作製した。各系列において、共染の有無および程度を判定した。

[結果]水道水を用いた系列では水含有率が40%を超えるとLMHおよびGHにて、いずれの臓器においても核の色味が濃くなり、細胞質に共染が認められた。特に、大腸粘液への共染は顕著であった。蒸留水を用いた系列では、水道水の系列よりも共染が軽減された。MHでは、どちらの系列においても、水含有率が増加するにつれて核の色味が薄まるとともに、共染はほとんど認めず、エオジンの色味が目立つようになった。

[考察]H溶液は使用環境や経時的変化により色調や染色態度が変化することが知られている。今回の検討では、水の混入に加え、H溶液の水分含有量や水質の違いもHE染色の色調変化に影響を及ぼす可能性が示唆された。これらの要因を把握し管理することで、試薬交換時期の適正化ならびに病理検査における内部精度管理への活用につながると考えられた。

連絡先：0744-22-3051（内線4303）

クリューバー・バレラ染色における分別処理方法改良の試み

◎林 恵嘉¹⁾、吉岡 沙織¹⁾、三浦 聡史¹⁾、田中 舜介¹⁾、北 健二¹⁾、岩下 玄基¹⁾、安井 寛²⁾
洛和会音羽病院 臨床検査部¹⁾、洛和会音羽病院 病理診断科²⁾

【はじめに】クリューバー・バレラ染色は、髄鞘と神経細胞内の Nissl 物質を選択的に染める染色である。しかし、ルクソールファストブルー (LFB) 染色後の 0.05%炭酸リチウム水溶液と 70%アルコールにおける分別手技は進行が速く、至適な染色性を得るには熟練を要する。我々は前回の検討において、分別液に 0.05%炭酸水素ナトリウム水溶液を用いることで分別の進行が緩徐になり、操作の安定化が期待できることを報告した。今回は、課題として残った一部組織における背景組織への共染を抑制し、分別条件を最適化することを目的として検討を行った。

【材料および方法】病理解剖で得られた大脳組織(10%中性緩衝ホルマリン固定)を用いた。8 μ m 厚パラフィン切片を作製し、LFB 染色液にて 60°Cで一晩染色した。0.05%炭酸水素ナトリウム水溶液の浸漬時間は 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120 分とし、70%アルコールでの分別は 3~5 回上下とした。各条件について、髄鞘の染色性および背景組織への共染の程度について比較検討を行った。

【結果】髄鞘の染色性は 105 分までは染色性が保たれてい

たが、120 分では過分別となった。一方で背景組織の共染は 30~60 分で認めたが、90~120 分では適切に分別されていた。今回の検討では検体間における背景組織の共染の程度の差は軽減していた。

【考察】炭酸水素ナトリウム水溶液は従来の炭酸リチウム水溶液に比して比較的緩やかなアルカリ性 (pH 約 8.6) である。そのため分別が緩徐に進行し、長時間浸漬後も髄鞘の染色性が保持されたと考えられ、髄鞘と背景組織のコントラストは浸漬時間 90~105 分が適していた。また今回の検討により、70%アルコールの分別時間を短縮したことで、検体間の背景組織の共染も効果的に軽減可能であることが示唆された。

【まとめ】0.05%炭酸水素ナトリウム水溶液を用いた分別法は、髄鞘の染色性を維持しながら背景組織の共染を抑制できる可能性が示された。本法は染色者の経験に依存しにくい安定したクリューバー・バレラ染色法となる可能性があり、今後さらに症例数を増やし有用性を検証したい。

連絡先—075-593-4111

当院における GenMineTOP の核酸収量と品質の調査

◎谷脇 右京¹⁾、野田 みゆき¹⁾、井上 翔太¹⁾、宮城 華那子¹⁾、田中 志穂¹⁾、竹腰 友博¹⁾、山田 雅¹⁾
地方独立行政法人京都市立病院機構京都市立病院¹⁾

【緒言】がんゲノムプロファイリングである GenMineTOP（以下、GMT）は DNA と RNA の同時解析が可能で、融合遺伝子の検出等に有用である。当院では、腫瘍含有率と面積を指標とし、病理検査技師が適切な検査を提案している。2024 年の GMT 導入当初は、手術検体（以下、Ope）を中心に検出していたが、生検検体（以下、Bx）においても解析成功が確認されたことから、Bx の提出を漸増させた。今回、GMT に提出した症例の核酸収量および品質を調査し、良好な結果が得られたので報告する。

【方法】当院より GMT を提出した 37 例を対象とし、核酸収量（DNA/RNA）および品質指標（ $\Delta \Delta C_p$ 値/DV200）を Ope（21 例）と Bx（16 例）に分けて調査した。

【結果】Ope と Bx の核酸収量と $\Delta \Delta C_t$ 値・DV200 の中央値（最小値-最大値）を以下に示す。DNA 収量は Ope で 3,225.8ng（572.0-4,589.7）、Bx で 1,184.7ng（183.3-3,049.3）であり、RNA 収量は Ope で 6,758.6ng（1,789.4-15,221.2）、Bx で 2,454.1ng（96.0-9,324.7）であった。 $\Delta \Delta C_t$ 値は Ope で 2.0（0.5-3.5）、Bx で 0.95（0.3-4.5）であり、DV200 は 53.8%

（30.3-69.1）、Bx で 58.8%（13.9-83.6）であった。4 項目全て基準を満たす症例は 33 例で、基準値以下で参考値となった症例が 4 例あったものの、全例で解析成功した。参考値となった 4 例の内訳は、DNA/RNA 量不足が各 1 例、RNA 品質不良が 2 例であった。

【考察】RNA は DNA に比して不安定とされ、Ope では RNA 品質不良、Bx では核酸収量不足が懸念されたが、EUS-FNA 等の微小検体を含む Bx の核酸収量は Ope には劣るものの充分量であった。核酸品質においては、 $\Delta \Delta C_t$ 値は全例で基準を満たした一方で、DV200 では症例間のばらつきが認められ、RNA 品質保持には適切な固定処理が重要と考えられた。以上より、得られたデータをもとに評価・フィードバックを行うことで、微小検体にも GMT が応用可能であることが明らかとなった。

【結語】EUS-FNA でも解析成功し、予後不良な膵癌の最適治療の選択に寄与できた。今後も適切な固定条件を維持し、解析成功率向上に取り組みたい。

連絡先：京都市立病院 臨床検査技術科 075-311-5311

当院病理部における臨地実習の現状

◎龍見 重信¹⁾、竹内 真央¹⁾、鈴木 久恵¹⁾、長谷川 真弓¹⁾、倉田 主税¹⁾、大西 雅人¹⁾
奈良県立医科大学附属病院¹⁾

【はじめに】2021年3月に臨床検査技師養成所指導ガイドラインが発出され、臨地実習ガイドラインが改訂された。その中では、必ず実施させる行為、必ず見学させる行為、実施させることが望ましい行為、見学させることが望ましい行為が具体的に定義付けられるようになった。また、臨地実習指導者が配置されている施設で臨地実習を行なわせることになった。これらを受け、臨地実習テキスト病理学的検査編を作成し、臨地実習生のアンケートとともに、当院病理部における臨地実習の現状について報告する。

【方法】2025年4月から2026年4月に、奈良県立医科大学附属病院病理部での臨地実習を受けた実習生9名を対象とし、アンケート調査を実施した。アンケートの項目は「1. アンケート同意」、「2. 病理部での実習期間」、「3. 専門学校生か4年制大学生か」、「4. 病理検査の臨地実習が短かったか否か」、「5. 病理検査の実習内容は簡単だったか否か」、「6. 臨地実習テキスト病理学的検査編は役に立ったか否か」、「7. 病理検査の実習は就職後も活かそうか否か」、「8. 病理検査の実習内容で良かった点はあるか否か」、「9.

病理検査の実習内容でもう少ししたかった内容はあるか否か」の9項目とした。

【結果】項目1は、「同意する」が9名だった。項目2は、「5日」が4名、「6日」が2名、「8日」が2名、「10日」が1名だった。項目3は、「専門学校生」が6名、「4年制大学生」が3名だった。項目4は、「短かった」が6名、「ちょうどよかった」が3名だった。項目5は、「ちょうどよかった」が8名、「難しかった」が1名だった。項目6は、「役に立たなかった」が1名、「役に立った」が8名だった。項目7は、「活かそう」が9名だった。項目8は、9名とも「技術の原理の理解が深まった」に類似する回答をした。項目9は、6名が「実習で行った以外の染色」、3名が「より多くの臓器の固定、切り出し、包埋」と回答した。

【まとめ】今回の調査により、実習内容についての、現場と実習生とのギャップがわかるとともに、その限界と改善点も同時に示唆された。今後、これらをもとに2026年2月に発刊された臨地実習指針2026の内容とも繋げていきたい。連絡先 0744-22-3051（内線 4303）

包埋皿を使用した簡易セルブロック作製法

◎河野 悠菜¹⁾、木枕 英俊¹⁾、佐藤 直美¹⁾、塩本 一正¹⁾、井田 淳¹⁾、吉田 正明¹⁾
独立行政法人 地域医療機能推進機構 大和郡山病院 臨床検査科¹⁾

【目的】

近年、遺伝子解析や免疫染色への応用で細胞診検体のセルブロック作製の必要性が増してきた。今回我々は短時間で簡便に作製するセルブロック法を検討することを目的とした。

【方法】

有機溶剤に侵されないポリプロピレン系プラスチックスピッツに検体を入れ、遠心によって集細胞を行い、10%緩衝ホルマリンで固定後、脱水、透徹をスピッツ内で行った。最後にキシレンを含んだ沈渣物を包埋皿に移し、パラフィンを注入した。その包埋皿を孵卵器に入れて60℃前後でパラフィンを溶解させてパラフィンプロックとし、薄切後にスライド標本作製した。検体の量や種類による違いはあるが、標本作製にかかる全行程時間は2～3時間であった。また3Dソフト(Blender)で傾斜のある包埋皿を原型設計して作製したシリコン包埋皿についても検討した。

【考察】

迅速自動脱水脱脂パラフィン浸透装置を所有していない施設において、低コストで簡易にセルブロック標本作製することができる。また血液混入や炎症の強い細胞診標本など観察しにくい場合にも適用することで、重積性の少ないHE標本の作製が可能になり、異型細胞を明瞭に確認することができるため検査精度が向上するといえる。従来から実施されている免疫染色や遺伝子関連の標本作製も可能である。さらに応用とし、2mm程度の微小な組織片では、3～4時間でパラフィンプロックを作製することができる。粘液成分が多く、軟らかく崩れやすい組織小片においても、臨床から提出されたそのままの状態での標本作製を開始することができるという利点がある。

連絡先：070-1794-0529

固定時間がセルブロック法の細胞に及ぼす影響について

◎今川 奈央子¹⁾、塚本 龍子¹⁾、蜂巢 智也¹⁾、平田 幸也¹⁾、須戸 佑介¹⁾、猪原 哲嗣¹⁾、吉田 美帆¹⁾、伊藤 智雄¹⁾
国立大学法人 神戸大学医学部附属病院¹⁾

【はじめに】セルブロック法は組織診断や細胞診断の補助的手段として非常に重要視され、近年では遺伝子検査にも活躍の場を広げている。当院では試験管（遠心管）法を用いてセルブロックを作製しており、10%中性緩衝ホルマリンを重層して固定している。通常は翌日に固定を終了しているが、休日を挟む場合には、固定時間が24時間を超えることがあり、免疫組織化学や特殊染色の染色性への影響が懸念される。今回我々は、固定時間がセルブロック法の細胞に及ぼす影響について検討したので報告する。【方法】細胞診の余剰検体を用いて試験管法にて作製した。固定は室温下にて10%中性緩衝ホルマリンを用いてで行った。固定時間は16時間20分から163時間まで7回に分けてパラフィンブロックを作製した。各ブロックについてHE染色、特殊染色5種類、免疫組織化学8抗体およびFISH法を行い、固定時間16時間20分の検体を基準とし染色性や細胞形態等を比較検討した。【結果】細胞形態およびHE染色、特殊染色、免疫組織化学の染色性については、固定時間による明らかな変化はみられなかった。一方、固定時間64時

間10分以降の標本でホルマリン色素の沈着がみられた。FISH法ではシグナルの数・形態に変化はみられなかったが、経時的に蛍光色素の細胞への非特異的沈着が増強する傾向がみられた。【考察】固定時間64時間10ではホルマリン色素の析出がみられたことから、10%中性緩衝ホルマリンがpH5.0以下の酸性条件となったことが示唆された。これは組織検体での過固定の状態と同様であるが、収縮などの細胞形態の変化や特殊染色、免疫組織化学への染色性の影響は特にみられなかった。しかしながらホルマリン色素は悪性黒色腫や免疫組織化学では判定の妨げとなる可能性があることから、固定時間としては40時間20分までに留めること望ましいと考えられた。一方、FISH法では163時間でもシグナルの判読は可能であったが、経時的に自家蛍光の増強から、ホルマリン固定による細胞蛋白に与える影響は経時的に増大することが示唆された。【結語】今回の検討では、固定時間の免疫組織化学への影響は顕著ではなかった。一方FISH法は細胞蛋白への影響があることが明らかとなった。（神戸大学病院 078-382-6474）

子宮頸部に発生した悪性黒色腫の一例

◎砂崎 百花¹⁾、清水 匠¹⁾、岩熊 隆太朗¹⁾、堀越 裕子¹⁾、鳥居 良貴²⁾、魚橋 志奈子¹⁾、湯村 香子¹⁾、横崎 宏¹⁾
兵庫県立丹波医療センター¹⁾、兵庫医科大学病院²⁾

【はじめに】

婦人科領域の悪性腫瘍のうち悪性黒色腫が占める割合は1~4%である。中でも、外陰、陰原発が多く、子宮頸部原発の悪性黒色腫は極めて稀である。今回、我々は子宮頸部に発生した悪性黒色腫の一例を経験したので報告する。

【症例】

50代女性、背部痛・右季肋部痛を主訴に近医を受診し多発肝腫瘍を指摘され、当院紹介受診となった。CTにて子宮頸部に不整形腫瘍、多発肝転移・肺転移・骨転移を認めたため、精査目的に子宮頸部細胞診が提出された。

【細胞所見】

LBCのSure Path法により標本を作製した。軽度の炎症性背景に、N/C比増大・クロマチン増量・核形不整・明瞭な核小体・多核細胞・相互封入像を示す結合性の乏しい異型細胞を多数認め、悪性と判定した。一部で核内細胞質偽封入体（Apitz小体）様の所見やメラニン顆粒がみられ、悪性黒色腫が示唆されると報告した。

【組織所見】

子宮頸部生検にて、上皮直下を主体に異型細胞が充実性に増殖しており、褐色顆粒を有した細胞が散見された。免疫組織化学では、S-100タンパク、Melan A、HMB-45陽性、AE1/AE3陰性であり、悪性黒色腫と診断された。

【結語】

本症例はN/C比増大・クロマチン増量・核形不整を示す異型細胞を孤立散在性に多数認め、HSILや低分化癌との鑑別に苦慮した。悪性黒色腫に特徴的なメラニン顆粒や異型細胞の出現形態、核所見の有無を観察することが重要である。

連絡先—0795-88-5200

タスクシフトにおける技師のみの切り出しから経験した子宮病変の紹介

◎佐藤 圭¹⁾、木下 佳乃¹⁾、井上 弘規¹⁾、山本 真奈¹⁾、伏見 翔一郎¹⁾
社会医療法人 愛仁会 千船病院¹⁾

【はじめに】

近年、医師の働き方改革を進めるためタスクシフト／シェアの推進において病理業務として5項目が実施可能とされており、そのうちの一つである切り出し業務において当院でも積極的に医師の指示のもと、一部の検体において技師のみの切り出しを行っている。

臨床診断を確認し肉眼的所見からある程度の推測で切り出しを進めていくが、想定しない診断がつくことがある。なかでも肉眼的に子宮平滑筋腫である検体が筋腫に加え、アデノマトイド腫瘍、悪性度不明な平滑筋腫瘍（以下、STUMP）、平滑筋肉腫と診断された症例に遭遇し、切り出し方について不安に感じることや問題がなかったことに安堵するなかで、技師のみの切り出しに一定の危うさが存在することを実感している。

今回、当院の症例提示をするとともに技師のみで行う切り出しについて注意すべき点をまとめ、報告する。

【症例】 子宮アデノマトイド腫瘍3例 STUMP4例 子宮平滑筋肉腫1例の切り出し図を供覧する

【まとめ】

技師のみの切り出し作業において、子宮筋腫や子宮腺筋症として臨床で判断され提出された検体において、その既知病変のほかに子宮アデノマトイド腫瘍、STUMP、子宮平滑筋肉腫が含まれていた症例を経験した。切り出し時にブロック作製部位は肉眼的特徴があれば選定するが、アデノマトイド腫瘍と子宮筋腫の見分けは難しく、STUMPであっても判断に苦慮することがわかった。技師のみの切り出しにおいて病変を見逃さないためにも、細かく割を入れ写真におさめ医師に提示する。またブロック作製箇所が少なく病変をとり逃さないために十分な数のブロック数が必要である。さらに切り出した病理診断はかならず確認し作製部位の所見を把握し次に活かすこと、部署内で症例を共有することも重要である。肉眼的に典型的な子宮筋腫、子宮腺筋症であってもどのような所見が得られるか一定ではないため、非良性腫瘍の存在も念頭に置き取り組むべきである。
連絡先 06-6471-9550

当院の病理検査室におけるタスク・シフトの取り組みについて

◎加藤 明日香¹⁾、西浦 宏和¹⁾、小林 祐貴¹⁾
大和高田市立病院¹⁾

2019年4月1日より、「働き方改革関連法」が段階的に施行され、労働者がより働きやすい環境の整備が進められています。医療分野では、医師の長時間労働が大きな課題とされ、2017年8月に厚生労働省が「医師の働き方改革に関する検討会」を設置しました。検討報告書では、医師の労働時間規制に加え、タスク・シフト/シェアの推進が重要であるとされ、その実現に向けて、現行制度下での職種間の役割分担を見直すとともに、従来の役割分担を変えていく制度的対応を検討していくべきと述べられています。

これを受け、日本臨床衛生検査技師会からは、臨床検査技師への移行が可能な業務として43項目が提示され、そのうち病理検査関連として、「手術材料の切り出し」、「生検検体、特殊染色、免疫染色等のスクリーニング」「病理解剖業務」の3項目が挙げられています。

また、日本病理学会からは「病理診断における切り出し補助」、「画像解析システムを用いたコンパニオン診断における計数・定量判定補助」、「デジタル病理画像の取り込み、機器調整、データ管理」、「病理診断報告書のチェック」の

4項目が提示されました。

さらに、第7回検討会資料では、現行制度下で実施可能な業務として18項目が示され、そのうち病理関連業務として、「病理標本所見の下書き作成」、「細胞診や超音波検査等の所見記載と担当医への報告」、「画像解析システムの操作」、「病理診断のダブルチェック」、「病理解剖」が含まれました。

本発表では、これに基づき、当院の病理検査室における取り組みについて紹介し、課題について考察します。

大和高田市立病院臨床技術科 0745-53-2901

法医学における病理検査業務の改善

◎東條 美紗¹⁾

国立大学法人 滋賀医科大学¹⁾

【はじめに】

病理検査は、死因診断においても重要な検査であるが、法医学の分野では、その運営・管理が教室や個人の自己流となっていることがある。今回、当教室で管理・運営を改善した経験を、法医学特有の問題も踏まえ、報告する。

【固定】

長期間の固定が問題であった。医師に把握してもらうため、保存容器の置き方を工夫し、一覧表を作成した。

【自動包埋装置】

保守管理が不十分であったため、作業記録簿を作成した。法医学特有の問題…腐敗やコンタミ、環境による修飾があり、機器の故障に繋がらないように管理した。

【包埋】

向きの指定はほとんど無いが、カセットに入っている向きで統一した。

【薄切】

ガラスに乗せる向きが統一されていなかったため、統一した。

法医学特有の問題…泥、煤、土などが付着している検体は薄切が困難となり、また熱性変化のある検体は剥がれやすくなるため、場合によってはシランコーティングに任せ、できるだけ組織が観察できるようにした。

【染色】

保守管理が不十分であったため、作業記録簿を作成した。また、特殊染色のプロトコール・染色時のコントロールがなかったため、それぞれ準備した。

法医学特有の問題…症例によって、染色の時間を変えていることがあった。医師の指示がない限り、プロトコールを変更しないことを徹底した。

【まとめ】

法医学の分野であっても、検査の質の保証は重要である。今回改善したことで、円滑な業務の遂行にも繋がった。運営を教室の医師と相談すること、他施設と交流し情報交換することも必要だと感じた。

滋賀医科大学 077-548-2111（代表）