

各種条件下における尿検査値の変動について

◎北野 亨¹⁾
医療法人 徳洲会 岸和田徳洲会病院¹⁾

各種条件下における尿検査値の変動について

[目的]

当院において尿化学検査を実施するにあたり、遠心前・遠心後に測定するといった検査室内の規定が存在していなかった為、今回実際の検体を用いて採取当日と一晩常温および冷蔵保存した検体での遠心前後の尿検査値を比較・検討した。

[方法]

当日採取した尿検体について

比重、Osm、TP、Alb、AMY、UN、CRE、UA、Ca、IP、Glu、Na、K、Clの各項目の測定を遠心前、遠心後それぞれに実施した。また、同一検体を一晩冷蔵保存・室温保存に分け、同測定を実施した。

[結果]

遠心による影響についてはTPの著明な減少が見られ、疎水性である膜蛋白が沈殿したためであると考えられた。検体放置による影響としては一部の検体について検査結果に変動が見られた。混濁の影響について一部Caの値に減

少がみられ、リン酸カルシウム結晶が影響したためであると考えられた。

[考察]

検体を遠心することで、一部の尿化学項目に偽低値が認められたため、尿化学検査時の遠心操作は実施すべきではないと考えられた。当院では強度の混濁尿や粘性尿等、目視判定や検査機器に影響を及ぼす可能性のある検体については遠心を行うが、その場合は検査データに参考値コメントをつけるように定めた。

[結語]

今回の検討を行うことで、尿化学検査の測定原理や検体の取扱いによる影響を再確認することができた。また、根拠に基づいた検査室規定の改定を行うことができ、スタッフの理解も得ることができた。今後もこのような基礎検討を重ね、根拠に基づいた効率的な検査を実施できるよう努めていきたい。

医療法人徳洲会 岸和田徳洲会病院
072-445-7257(直通)

リンパ節の凍結切片作製時におけるアーチファクトの検討

◎末岡 馨¹⁾、田村 明代²⁾、菅原 雅史²⁾、松浦 亮一郎²⁾、井本 秀志²⁾、尾松 雅仁²⁾、森田 明子²⁾、老田 達雄²⁾
神戸市立医療センター中央市民病院¹⁾、独立行政法人 神戸市民病院機構 神戸市立医療センター 中央市民病院²⁾

【目的・背景】

リンパ節などの組織を薄切した際、すだれ状の細かな切片のひび割れ(以後すだれ)が起きることがある。すだれは温度を上げることで改善されることが経験的に知られているが、その発生機序に関して詳しいことは知られていない。そこで今回我々は様々な条件下で薄切することでその発生機序について検討したので報告する。

【対象・方法】

剖検時に採取した転移のない腹腔内リンパ節を対象としCRYOSTAR NX70の自動薄切機能を用いて、厚さ、温度、速度をそれぞれ変更し薄切した。①5 μ m、-35~-15まで5 $^{\circ}$ C間隔、通常速度②10 μ m、-35 $^{\circ}$ Cと-20 $^{\circ}$ C、通常速度③5 μ m、-35 $^{\circ}$ Cと-20 $^{\circ}$ C、3段階の速度でそれぞれ薄切した。

【結果】

①試料台の温度が低くなるにつれてすだれの発生が顕著となった。②いずれの温度に対しても10 μ mで薄切した標本において、よりすだれの発生が顕著にみられた。③いずれの温度に対しても速い速度での薄切時にすだれが顕著にみ

られた。また、すだれが発生した標本を観察すると、すだれは細胞成分が密な部分に刃と並行に生じているが、その周囲の結合組織には生じていなかった。さらにすだれが生じている部分の組織は刃の進行方向の手前から奥に向かって折り重なっていることが確認できた。

【考察】

組織を冷却すると分子運動が小さくなり硬度が高まるため、薄切時により大きな力が必要になると考えられる。このため、リンパ節のような細胞成分が多く結合性に乏しい組織では、形態を保つことができずすだれが生じてしまうと推測される。また、薄切速度を上げることや切片の厚みを厚くすることも組織にかかる力を大きくする要因と考えられる。以上から薄切時に組織に加わる過剰な力が、すだれが発生する一つの原因であるという可能性が示唆された。

【結語】

凍結切片作製時には各々の組織に対する適正な条件を理解し、標本作成することが望まれる。

神戸市立医療センター中央市民病院(直通)：078-302-5264

自動包埋装置 PELORIS II (Lieca 社)を用いた One-Day Pathology の検討

◎山田 寛¹⁾、柳田 絵美衣¹⁾、塚本 龍子¹⁾、遠藤 亮和¹⁾、今川 奈央子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】

病理診断において One-Day Pathology を取り入れる施設も珍しくなくなってきた。現在、One-Day Pathology 用の自動包埋装置として、サクラファインテックジャパンのエクस्प्रेसや株式会社常光の Histra-QS などが販売されている。各社とも試薬や装置などに工夫を凝らし、短時間でのパラフィン浸透を可能にしている。

昨年当病理部は、Lieca 社の PELORIS II を導入した。この自動包埋装置は試薬は汎用試薬を用いているが、処理槽の底部に大きなスターラーを配置し、溶液の攪拌により振盪の促進を行っている。

今回我々は、PELORIS II を用いて One-Day Pathology のプログラムを検討したのでこれを報告する。

【方法】

- ①手術材料の切出し残より、未固定の部分を採取。これを 1mm 角から大きくしていき、各大きさの検体を切り出す
- ②これを村角工業のカセットに詰める
- ③PELORIS II のプログラムを操作し、One-Day

Pathology 用の 90 分～120 分プログラムを検討

- ④各プログラムで検体処理
- ⑤出来上がったブロックを薄切し、特染や免疫を行う
- ⑥通常処置した検体と染色性を比較

【結果】

1mm 角や針生検の検体は特染や免疫も通常処理と遜色なかったが、4mm 以上の検体は薄切も染色も厳しいものがあった。

【まとめ】

PELORIS II を用いた One-Day Pathology は可能であり、また PELORIS II は処理槽が 2 槽あるので、通常検体を廻しながらの One-Day Pathology もできる。使い方によっては検体→HE→免疫も 1 日で可能である。

これにより病理診断の TAT 短縮にも寄与できるものと考ええる。

神戸大学医学部附属病院病理部 山田寛

Mail : r50bmw1@med.kobe-u.ac.jp

TEL : 078-382-6474

薄切切片におけるしわの発生原因と軽減の検討

◎龍見 重信¹⁾、西川 武¹⁾、竹内 真央¹⁾、福井 義雅¹⁾、田中 京子¹⁾
 奈良県立医科大学附属病院¹⁾

標本作製する際に生じるアーチファクトは、検体採取時に由来するものから、染色や封入に由来するものまで多彩に存在する。この中には標本作製技術により回避可能なアーチファクトも多数存在する。今回我々は、薄切標本中の消化管粘膜上皮に発生するしわにつき、その軽減法の模索を行ったので報告する。

【方法】

診断後 3 か月以上経過した消化管を用い、30mm×2mm に切り出しを行った標本を用い検討を行った。検討にはサクラ VIP6 を用い、標本の作製を行った。ブロックの作成条件は、脱水、透徹、パラフィン浸透時間（1 槽 5 分及び 1 槽 60 分）、及び薬液液面に対するカセットの向き（平行及び垂直）合計 4 種類の作製を行った。検討は、薄切標本中の粘膜上皮に発生した、しわの調査を行った。薄切条件は、刃角（35 度及び 22 度）、引き角（0 度及び 45 度）、薄切速度（速い及び遅い）について、また、伸展温度別（45℃、50℃、55℃）における発生状況を調査した。次に、発生したしわに対する軽減条件を検討した。検討は、ミスト使用

による効果及び、ブロック表面の乾燥後再包埋で薄切を行い、その効果を検証した。

【結果】

パラフィン浸透時間による検討、薄切条件（刃角、引き角、薄切速度）で、しわの発生に有意な差は見られなかった。しかし、VIP の薬液液面に対するカセットの向き（平行及び垂直）では、薬液面に対しカセットが垂直の条件に比し、薬液面に対しカセットが平行の条件では、有意にしわの発生が軽減された。また、伸展温度では、45℃に比し、50℃や 55℃ではしわの発生に抑制傾向が見られた。しわが発生したブロックに対し、ミストを使用した薄切法ではしわの軽減につながらなかったが、ブロック表面の乾燥後再包埋で薄切を試みた場合、しわの発生が軽減された。

【考察】

今回の検討では、しわの発生の要因としてブロック作製時のカセットの向き、伸展温度が関与し、再薄切時のしわの軽減には、ブロック表面の乾燥後再包埋を行い薄切することが有用であった。0744-22-3051 (4303)

安全性に配慮した病理検査システムの構築と運用

◎安藤 加奈江¹⁾、久保田 浩¹⁾、目黒 麻紀¹⁾
 大阪市立大学医学部附属病院¹⁾

【目的】病理検査は常にリスクをはらんでいるため、早急に安全な体制作りを行う必要がある。今回、我々は病理検査で起きうる様々なヒヤリハットやインシデントを軽減するために病理標本作製過程における作業の見直しを行い、運用面の改善とシステム改良を行った。H27年1月の病院情報システムの更新を契機に再度運用面を見直し、病理システムを新システムへ更新する中で旧システムの欠点を補い、より安全なシステムに更新することを目的とした。また、検体授受の方法の見直しも行ったので報告する。【方法】バーコードラベルの読み取りを利用し、できる限りリスクを軽減するよう手順を見直した。包埋カセット読み取りによる薄切、貸出管理、画像取り込み、診断前後の標本バーコード読み取り確認。運用面では、手術部と連携し、術中迅速検体の受け取りの煩雑さの解消を行った。【結果】Web表示画面には常に最新報告を表示し、報告書の見誤りを防ぐことができた。薄切時のスライドガラス取り間違いがなくなった。部内で標本の進捗状況が明確化された。バーコードラ

ベルの貸出管理を行うことで、返却時にもバーコードで一括処理ができるようになった。診断前後に顕微鏡下の標本の再読み取りをすることで標本間違いを起こすリスクが軽減した。手術部と迅速搬送用紙運用の実施により電話連絡の聞き取り間違いが起きなくなった。

【まとめ】システム更新を契機に旧システムの欠点を補う形で更新することができた。また、部署内だけで解決できない場合は、他部門にも協力を依頼し、運用を見直した。このように地道な努力を行いながら1つずつリスクを軽減していくことが病理検査をより安全に行うため必要であり、安全性があつての精度および迅速性があるのだということを改めて認識した。報告は実際に行ったシステム更新状況および運用面について行う。

連絡先：大阪市立大学医学部附属病院病理診断科
 電話番号：06-6645-2225

当院で経験した多包性エキノкокクス症の1例

◎秋山 綾子¹⁾、竹腰 友博¹⁾、高島 和佳¹⁾、川端 直樹¹⁾
 市立敦賀病院¹⁾

【はじめに】多包性エキノкокクス症はエキノкокクス属条虫の多包条虫 (*Echinococcus multilocularis*) に起因する疾患で、4類感染症全数把握疾患に指定されている。ヒトには虫卵の経口摂取により感染し、主に肝臓に定着増殖し病巣を形成する。多臓器への転移もきたし、適切な治療を行わなければ予後は非常に不良である。確定診断には血清学的に多包条虫の特異抗体の検出、形態学的に虫体の一部であるクチクラ層（包虫嚢胞）の存在を証明することが必要である。北海道地方ではよく知られている疾患であるが、当院では経験がなく、診断に苦慮したため報告する。

【症例】50歳代、男性、発熱、食欲不振が続き、前医受診、肝膿瘍診断にて当院紹介受診となる。造影CT画像では肝内に巨大な嚢胞性病変を認め、その壁は厚く一部石灰化していた。さらに左側腹壁直下に別の嚢胞性病変、脾臓に多発する占拠性病変、肝表、横隔膜下、小腸壁にも結節が認められた。腫瘍性病変やアメーバ性肝膿瘍も疑い試験穿刺を

施行するも、確定診断は得られなかった。後日腹腔鏡下試験切除が施行された。

【検査所見】捺印細胞診では断片化した無構造物質のクチクラ層を認めた。組織所見は脂肪織内にリンパ球浸潤と線維化、肉芽腫反応を伴う寄生虫虫体を認めた。虫体は好酸性層状構造物からなるクチクラ層でエキノкокクス症と診断された。血清学的には多包条虫に対する特異抗体が検出された。後日膿瘍穿刺液を鏡検し直すと、炎症細胞の中にクチクラ層が確認できた。

【考察】好酸性層状構造物からなるクチクラ層は多包性エキノкокクス症に特徴的な所見である。早期に診断し、切除することが根治的治療法となるため、原因不明の肝嚢胞の診断の際念頭におく必要があると考える。

連絡先 0770-22-3611（内線 4231）

Mycosis fungoides の鑑別を目指した酵素抗体法二重染色の検討

◎柳田 絵美衣¹⁾、遠藤 亮和¹⁾、山田 寛¹⁾、塚本 龍子¹⁾、伊藤 智雄¹⁾
 国立大学法人 神戸大学医学部附属病院 病理部¹⁾

【背景】Mycosis fungoides (菌状息肉症) は原発性皮膚リンパ腫の皮膚 T 細胞リンパ腫であり、皮膚 T 細胞リンパ腫において最も発生頻度が高い。Mycosis fungoides は、紅斑期(I 期)→扁平浸潤期(II 期)→腫瘤期(III 期)→内臓浸潤期(IV 期)と進行する。紅斑期(I 期)、扁平浸潤期(II 期)では、ステロイド軟こうや光線療法、放射線療法により約 90%程度で寛解、腫瘤期へ進行せず維持することが可能となる。しかし、腫瘤期(III 期)では放射線療法や化学療法に抵抗を示し、難治性となる。腫瘤が縮小または消失しても再増悪することがある。腫瘤期の約 10%がさらに次ステージへ進行する。内臓浸潤期(IV 期)においては、抗癌剤による化学療法も行われるが、予後は極めて不良であり、通常数ヶ月で死亡に至るため、早期期の発見・治療が重要となる。

【病理所見】基本的には HE 染色で診断するが、免疫組織化学染色も参考となることが多い。典型病変では CD2+、CD3+、CD4+、CD5+、CD45RO+、CD8-、TCR-beta+、CD30-である。さらに、通常の末梢性 T リンパ球では CD7 が発現しているが、Mycosis fungoides では CD7 の発現

が失われることが多く、表皮内の脳回転様(cerebriform)の核をもつリンパ球で CD7、CD2、CD5 や CD4 の消失が確認できれば診断と補助となる。(2006 年 WHO Blue book (skin Tumor) 1 参考)

【目的】Mycosis fungoides は病期による治療方針や予後が大きく異なるため、早期発見・治療が肝となる。本研究は Mycosis fungoides の鑑別を目指した酵素抗体法二重染色の検討を目的とする。

【方法】当院で Mycosis fungoides と診断された症例のホルマリン固定パラフィン包埋切片(4μm)を用いる。一次抗体として CD3 と CD7 を使用。カクテル抗体を作製し酵素抗体法二重染色をおこなう。

【結果】CD3 と CD7 の二重染色により、1 枚の標本上で、一目で CD7 消失を正確に確認することが可能となった。カクテル抗体での染色により、染色時間・工程は免疫単染色とほぼ同等であった。

神戸大学医学部附属病院病理部/先端組織染色センター (KATS) 078-382-6474

免疫染色と FISH のハイブリッド法による効率的な FISH シグナルの検出

◎遠藤 亮和¹⁾、柳田 絵美衣¹⁾、山田 寛¹⁾、塚本 龍子¹⁾、伊藤 智雄²⁾
 国立大学法人 神戸大学医学部附属病院¹⁾、国立大学法人 神戸大学医学部附属病院 病理部²⁾

【背景】

近年、様々な分子標的薬が開発され、その投与対象を決定するために免疫染色とともに蛍光 in situ ハイブリダイゼーション (Fluorescence in situ Hybridization: FISH) 法が行われている。FISH 法は蛍光顕微鏡を用いて暗視野下にて観察するため、カウントすべき細胞か否か判断に迷うことが多々ある。通常は HE 染色標本を参考にカウントすべき細胞を判断しているが、HE 染色標本と FISH 標本では薄切面が異なり、必ずしも参考にはならない。特に腫瘍細胞が少量である場合には、間質細胞や正常上皮細胞などを誤って判定することも考えられる。そのため、FISH 法のカウントは難しく慎重に行わなければならない。

【目的】

本研究では、HE 染色標本を参考にしなくても、蛍光顕微鏡下のみでカウントすべき細胞を的確に判断し、より精度の高い FISH 法を行う方法を見出すことを目的とする。

【方法】

自動免疫染色装置にて染色された HER2 免疫染色標本に、

直接 HER2FISH 法を行い、蛍光顕微鏡下にて FISH シグナルが確認できるか検討を行った。

【結果】

DAB は、蛍光顕微鏡下にて自家蛍光を持たず、免疫染色された標本において FISH シグナルが確認でき、カウントすべき細胞の判断も容易に行う事ができた。また、FISH 法の染色操作によって DAB の退色も見られず、細胞融解なども見られなかった。さらに通常の FISH 法を実施するよりも、免疫染色された標本に FISH 法を行う事で FISH 法の工程を省くことができ、時間短縮も可能となった。

神戸大学医学部附属病院病理部
 先端組織染色センター (KATS) 078-382-6474

キシレンフリーの製剤を用いた細胞診標本における退色の検討

◎城本 千裕¹⁾、田村 明代¹⁾、尾松 雅仁¹⁾、松浦 亮一郎¹⁾、井本 秀志¹⁾、森田 明子¹⁾、菅原 雅史¹⁾、老田 達雄¹⁾
独立行政法人 神戸市民病院機構 神戸市立医療センター 中央市民病院¹⁾

【はじめに】

近年、キシレンを含む有機溶剤は労働安全衛生法令の規制により対策を講じる必要がある。当院病理検査室ではキシレン溶剤の使用量を抑制するため、キシレンフリーの透徹剤や封入剤の導入を検討している。今回パパニコロウ染色の安定性において若干の知見を得たので報告する。

【対象および方法】

子宮体癌患者の腹水を用いたパパニコロウ染色標本を対象とし、以下の検討を行った。染色から脱水までの工程を同条件で行った後、透徹剤を Xylene、リモネン系の Hemo-D、脂肪族炭化水素系の Clear Plus の 3 種で比較した。封入剤は脂肪族炭化水素系の PARAmount-D、キシレン系の Entellan new、退色防止剤入キシレン系の Malinol の 3 種で比較した。これらを組み合わせて作製した標本を用いて、保管条件を蛍光灯下、遮光、UVC 照射下（波長 254nm）として検討した。標本のマクロ像及びミクロ像（接眼レンズ×10）を経時的に撮影し、染色の安定性について観察を行った。

【結果】

Clear Plus と Malinol の組み合わせは封入時に気泡が生じ、経時観察が困難な状態であった。封入剤に PARAmount-D を用いた場合、透徹剤が Xylene 及び Hemo-D では 7 日後から、ClearPlus では 14 日後から退色が認められ、その後徐々に退色が強くなる様子が観察できた。退色したのは主にライトグリーンであった。また Hemo-D と PARAmount-D の組み合わせでは、すべての保管条件下で退色を認めたものの、遮光条件で保管した標本は退色の度合いが低かった。PARAmount-D 以外の封入剤を使用した組み合わせについては目立った退色は認めなかった。

【考察とまとめ】

今回の検討でキシレンフリーの透徹剤と封入剤の組み合わせにより染色の安定性に影響があることがわかった。環境や人体に悪影響を及ぼすキシレンを使用せず、従来通りの染色性を保つ標本を作製するには透徹剤、封入剤それぞれの性質を理解し、使用していくことが重要であると考えられる。神戸市立医療センター中央市民病院(直通):078-302-5264

病院機能評価 3rdG : Ver.1.1 受審に向けての病理検査室の取り組み

◎鹿口 千秋¹⁾、二村 香織¹⁾、嵐 早織¹⁾、上田 一仁¹⁾
市立芦屋病院¹⁾

【目的】病院機能評価 3rdG : Ver.1.1 受審に際し、認定取得に向け病理検査室が取るべき対応についてまとめたので報告する。

【方法】前回受審時の指摘事項および既受審施設から入手した情報を元に、各種マニュアル類や管理台帳の新規作成・修正を行った。検査室環境でのホルマリン濃度に関しては構造上大がかりな排気ダクト工事などは行えないため、ホルマリンが解放される時間を削減することで対応した。またプレ審査段階で指摘された、山積みとなっていた組織ブロック・標本は新設した倉庫に直近分を除いて移設し病理検査室内の動線確保と倒壊危険の回避を試みた。

【結果】平成 27 年 6 月無事至適事項もなく認定を受けることが出来た。特に作業環境や毒劇物の管理については良好に管理されていると高評価を得た。

【考察】病理検査室ではまず作業環境に関するヒアリングが必ず行われる。ホルマリン濃度において第一管理区分になること、もしくは第二管理区分であれば改善策を施していることが重要なポイントである。検体受付時に発生した

廃棄物はそのまま廃棄せず、ナイロン袋に入れ、口を縛ること、組織切り出し終了後は早急にヒストパックをシールすることで第一区分の作業環境を確保した。また、毒劇物の管理も重要な事項である。施錠できるだけでなく、地震発生時などに保管庫自体また中で薬品類が倒れないような工夫が望ましい。当院では毒劇物は薬品保管庫の最下段に一本ずつ区切られたケースを置き、その中にクッション材を巻いて保管している。使用記録表は使用量・残量などから不正な使用が無いことを管理できる仕様としている。一方、設備面では空調設備にカビが繁殖していた。施設担当者に受審前に応急処置をしていただいたが、将来的には抜本的な改造が望まれる。このような受審前の内部監査員によるチェック体制は有効であると考えられた。

【結論】病理検査室では他の検査室に比較してホルマリンなどの有害物質を取扱う機会が多く、作業環境の管理が重要である。今後、受審を目指す施設の方々に参考になればと、当院の具体的な対応事例を紹介したい。

連絡先：0797-31-2156