

宮臨技セミナー2021

病理組織・細胞診標本作成

のちょっとしたコツ

★初めて病理検査をする人向け

潤和会記念病院 臨床検査室

猪股 美佳

(※ハングアウト用のため画像は抜いてあります)

きれいな組織標本を作るには・・・

- ▶ 検体をしっかりと「固定」！
- ▶ 「包埋」が実は重要！
- ▶ 「薄切」時のアーチファクトを減らそう！
- ▶ 「染色」チェック！

検体をしっかりと「固定」

▶ 「固定」：ホルマリンに浸漬して組織の状態を保持する。

● 固定不十分だと・・・

脱水・透徹・パラフィン浸透が十分に行われず、薄切できない。

例：パラフィンブロック化して粗切り(面出し)してみたら、中央部が明らかに凹んでいる、柔らかい、グジャっとしている。

そのまま薄切してみたら、同部が消しゴムくずのようにくずくずになってしまう。

→パラフィンを溶かし脱水・透徹を逆順序に戻していき、再度追加固定を行う。

● ただし固定が長すぎると・・・

遺伝子検査などに利用する際DNA収量が低下する。

→10%中性緩衝ホルマリンで6～48時間以内が推奨！

検体をしっかりと「固定」

- 固定されにくいもの：
 - ・ 厚みのある組織や筋組織など硬い組織が豊富な臓器：子宮、膀胱、直腸肛門部など
 - ・ 充実性の臓器：肝臓、腎臓、脾臓、前立腺など
 - ・ 脂肪が多い臓器：乳腺、大腸など

固定不十分な場合、肉眼的に赤みを帯びて見える。

ただし上記の様な臓器の場合は、見た目には赤みがなくても適宜追加固定した方がよい。(前日に切除されたばかりのときなど要注意)

※検体を扱う皆さんに知っておいてほしいこと

ホルマリン固定は常温が基本！

- ・ 冷蔵だと...固定がゆっくりになるので通常は×
- ・ 加温すると...固定は早くなるので、急ぐときや当日少しだけ追加固定したいときなどに利用すると良い。

細胞診は冷蔵へ！

- ・ 細胞診の材料は基本的に固定されていないので、すぐに処理できないときは冷蔵庫保管
- ・ 液状化細胞診（liquid-based cytology: LBC法）は保存液で固定されているので常温可

「包埋」が実は重要！

- ▶ 包埋皿の底面に全面をしっかりと貼り付け、均一に面が出るようにする。

※粗切りによる検体の損失を防止するのに重要！

- 検体全体を押さえつけ貼りつくようにする。一度に全体を押さえるより四隅と中央部を意識してあちこち押さえる方が良い。
 - 特に検体の端は熱で反り返りやすいので気を付ける。
- ▶ 包埋する方向性に注意(特に粘膜病変など)
基本的に切りだした垂直面(断面)が出るように包埋する。

「包埋」が実は重要！

- ▶ 大きさがまちまちなものを、出したい面が揃うように工夫して包埋

小さな生検材料やリンパ節など、病変の中心部や最大面が見たいときに、大きなものから先に包埋すると時間差で小さいものと面が揃いやすい。

- ▶ 可能な限り狙って包埋

- 病変を観察して、通常部(良性部)と形態・色調が違う部分が出るようにする。
- 腫瘍と通常部(良性部)の境界部は診断上重要なのできちんと出るようにする。

「薄切」時のアーチファクトを減らそう！

▶ 切片がカールするとき

- 静電気によるため、息を吹きかけ湿気をかけながら切る。

▶ 切片が刃の部分で縮むとき

- ブロックをよく冷やしてから切る。
- 冷やしてもだめなら刃が傷んでいるため交換する。

▶ 切片に傷が入ったとき

- 傷がついたブロックをチェック。傷のラインに沿って硬そうなゴミ(組織部なら結石・糸・金属ステープラーなど、余白部にもプラスチック片など)が入っていないかチェックし取り除く。
- 石灰化や取り除けないような小さな結石などがある場合は、面だしを行ってからブロックのまま脱灰する。脱灰後はよく水洗して切る。
- 細かい傷がたくさん入るようなときは刃を交換する。

「薄切」時のアーチファクトを減らそう！

- ▶ 面が白っぽく荒れる・切片が虫食い状態になるとき
 - 粗切り最後を10 μ m以下で仕上げる。粗切りの厚さ設定を下げる。
 - パラフィン浸透不良の可能性があるので、切り出しの大きさやオートキネットの設定時間を改善する。
- ▶ 切片にシワができるとき
 - ブロックをよく冷やして切る。
 - 大きめ(ゆるめ)のシワなら温浴層や伸展板で伸ばす。
高温で短期にやる方が良い場合と、低温でじっくり伸ばす方が良い場合がある。
(例) 物理的に伸ばせなかったようなシワは、高温で一気に伸ばした方が伸びる。
(消化器などの)粘膜層だけにシワができるときは、低温でゆっくり伸ばした方が伸びる。
 - 上記の操作でも伸びないような細かいシワができるときは刃が傷んでいるため交換。

「薄切」時のアーチファクトを減らそう！

▶ 切片の厚さにムラがあるとき

- まずは機器のがたつきが無いかチェック。試料台や刃の留め具がしっかり留まっているか確認する。
- 薄切スピードを一定にする。ゆっくり目にした方が良い。
- 硬い組織の時は、水に浸漬するか軽く脱灰液に浸漬し柔らかくしてから切る。(5分程度でOK)

▶ チャタリング(さざ波状のムラ)ができるとき

- ブロックを冷やしすぎない。ブロックが硬すぎるとおこりやすい。
- 面出し後に水に漬けて柔らかくしてから切る。(特に冬季)
 - ・ 面出し後冷却器上で、水分を含ませたガーゼを載せて行くと、適度な水分が加わる上冷やしながらかできるので時間的にも効率がよい。

細胞診標本作成のコツ

～検体の性質と標本作成法について～

共通事項として

- ▶ 沈渣の量・性質(粘稠性の有無、血性度合い)で、スライドガラス1枚あたりに載せる量を調整する。
 - 尿や洗浄液などサラサラなもの、細胞成分が少ないもの：上清をしっかりと目に取り除き沈渣液を濃縮した方が良い。
 - 体腔液(胸水、腹水など)：若干の粘稠性があるため引きガラス法では少し多めに載せた方がよい。(引き広がりにつくため)
 - 細胞成分が多いものや血性が強いとき：厚くなりすぎないように少な目に載せた方がよい。
- ▶ 厚い標本は観察しづらい！

特にGiemsa染色標本では乾燥不良になりやすいので、Pap染色標本より少な目に載せ薄く塗抹するようにする。

▶ 引きガラス法

沈渣量・粘稠性で引きガラスの角度とスピードを調節

- 沈渣が少ないとき

ガラスの角度：大 スピード：速

- 洗浄液などさらさらした検体で沈渣が多いとき

ガラスの角度：大 スピード：やや速め

- 貯留体腔液(腹水・胸水など)、血性が強い

ガラスの角度：少し低 スピード：ゆっくりめ

- 粘稠性が高いもの

ガラスの角度：低 スピード：ゆっくり

▶ ピペット塗抹法

- 尿沈渣など、細胞集塊が壊れやすいもの向き。
- 厚くなりやすいので、特にGiemsa染色標本では肉眼的には「塗れているよね!？」と思うくらい薄目に塗抹した方が観察しやすい。

▶ すり合わせ法

- 粘稠性が強い喀痰など向き。
- ある程度の粘液が含まれる胆汁、膵液など剥離しやすい検体も向いている。
- その他沈渣量が非常に多い場合にも併用するとよい。
- 細胞が壊れるのを防ぐためすり合わせ回数は、喀痰や粘稠性が強い粘液などは3回以内、その他は1回にとどめる。

▶ 合わせ法

2枚のガラスをスタンプするように軽く合わせて、離す。
(擦らない)

穿刺吸引検体など、細胞が壊れやすいが薄く広げて観察したいときに有用。