

病理標本作製技術

医学系部門 基礎社会医学班

法村 真一

1. はじめに

病理学とは、細胞、組織、臓器を肉眼・顕微鏡を用いて形態学的に病気の原因、発生機序を解明する事を目的とする医学分野の1つである。その病理学にとって必要不可欠なものに、細胞をミクロレベルで光学顕微鏡を介して観察する病理標本がある。

病理標本が出来るまでに、①臓器マクロ写真撮影、②臓器の切り出しと固定、③脱水と包埋、④薄切、⑤染色等の工程を行い、1つのプレパラート標本が作製される。病理学講座に配属される技術職員はこのプレパラート標本作製を中心に仕事を行い、その他に病理解剖介助を行っている。

今回は病理標本の作製工程について説明する。

2. 病理標本が出来るまで

(1) マクロ写真撮影・切り出し

病理標本を作製する材料としては大学病院で亡くなられたご遺体から取り出した各臓器ごとに標本作製を行う。

まず、解剖時に摘出した臓器は各臓器のマクロ所見を病理医が取っていく。所見をとった後に、証拠写真として各臓器の写真撮影(写真1)を行う。写真撮影を行う際は臓器のスケールが分かるように定規を置いて撮影を行う。

臓器は生のままだと死後変化による腐敗が進み標本作製の妨げになるので、組織を薬品の中に漬け込み組織内の蛋白質を安定させ腐敗を阻止する操作(固定)を行う。代表的な薬品としては10%ホルマリン液を用いる。1日以上ホルマリン液に漬け込み固定が終わると次は臓器の切り出しが行われる。切り出しは病理解剖を担当した病理医が行い、技術職員は切り出しを介助する形をとる。

各臓器を W30×D40×6mm 大のカセットに入る大きさに切り出していきカセットの中に1つずつ入れていく。

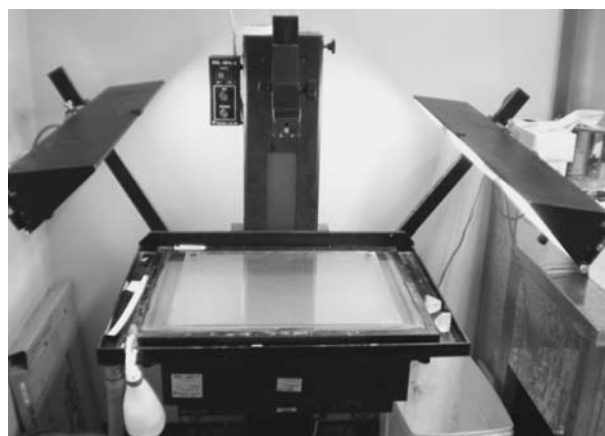


写真1 臓器撮影を行う台



写真2 臓器の切り出しを行う

(2) 脱水・包埋処理

組織はホルマリン固定後のままでは柔らかい為、薄く切る事が出来ない。組織に適度で均一な硬度をもたせるために、ロウソクの蠟と同じ性状で熱すると液体状になり冷却すると固くなるパラフィンを用い、その中に組織を埋め込みパラフィ

ンブロックを作製する。

また、パラフィンと水との相性が悪い為組織中に水分が存在するとパラフィン浸透の妨げになるので、アルコールやキシレンなどの有機溶剤を用いて脱水処理を行いその後包埋操作に移る。脱水・包埋処理はVIPという自動脱水包埋装置(写真3)により約1日機械に入れると全自動で脱水から包埋までが終了している。VIPの流れを以下に示す。

- | | |
|-------------|---------|
| ① 95%アルコール | 1h30min |
| ② 100%アルコール | 1h |
| ③ 100%アルコール | 1h |
| ④ 100%アルコール | 1h |
| ⑤ 100%アルコール | 1h |
| ⑥ 100%アルコール | 1h |
| ⑦ キシレンⅠ | 50min |
| ⑧ キシレンⅡ | 50min |
| ⑨ キシレンⅢ | 50min |
| ⑩ パラフィン | 50min |
| ⑪ パラフィン | 50min |
| ⑫ パラフィン | 50min |
| ⑬ パラフィン | 50min |



写真3 VIP (自動脱水装置)

脱水・パラフィン浸透が終わると包埋センター(写真4)でブロック作製を行う。包埋センターでは、ステンレス製の包埋皿に組織を載せその上にパラフィンを流し込みその上にカセットを載せ4~-6℃に冷却された包埋センターでパラフィンを固めブロックを作製する(写真5)。



写真4 包埋センター

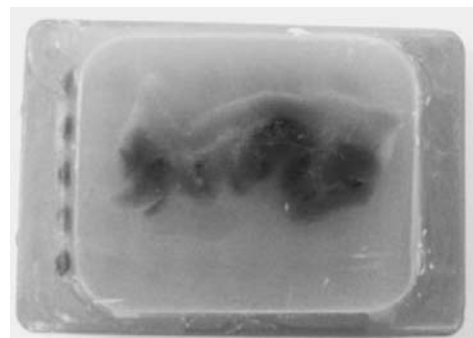


写真5 パラフィブロック

(3) 薄切

ミクロトーム(写真6)にセットしたブロックは余分なパラフィンを取り除き、目的とする組織をブロックから出す荒削り(写真7-①)を行う。次に、新しい刃に替え目的とする組織を1~6 μ mに薄切する本削り(写真7-②)を行う。薄切する厚さは用途に応じて変え、通常の一般的な組織の検索は3~4 μ mで行う。また、腎生検での糸球体病変の検索は2 μ m以下で行い、脳組織は6 μ mの厚さで薄切を行う。いずれにおいても薄切を行う上で大切なのは、一定の速度で刃を動かす事と適度な湿度調整(薄切面への加湿)である。これ

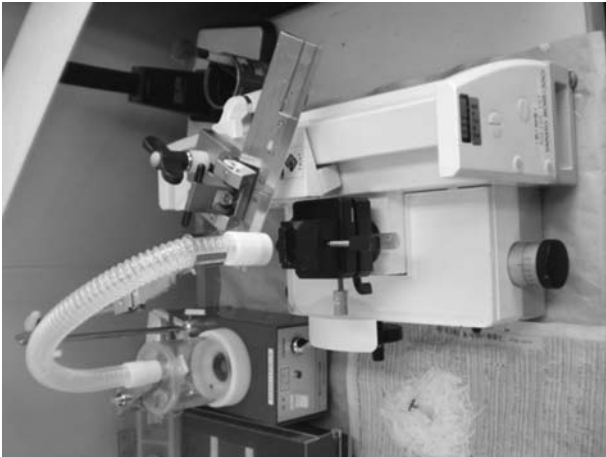


写真6 ミクロトーム

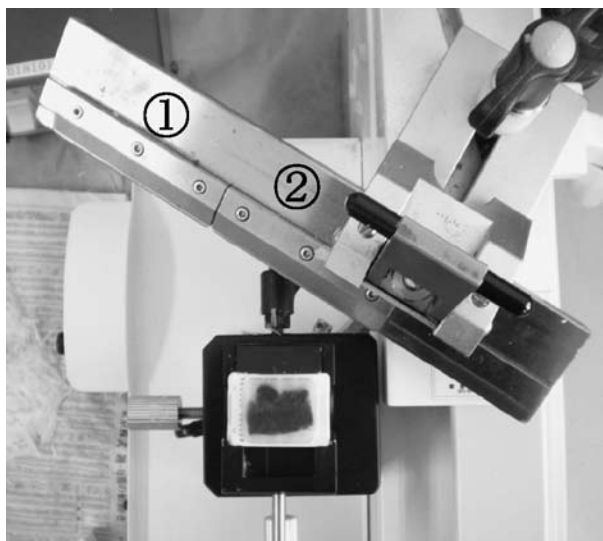


写真7



写真8 薄切した切片

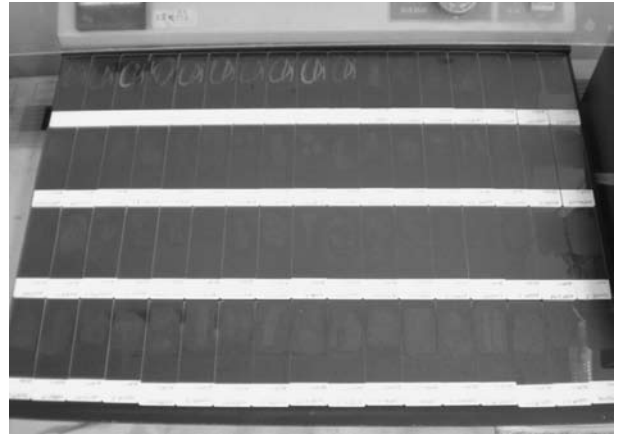


写真9 45℃で1日乾燥

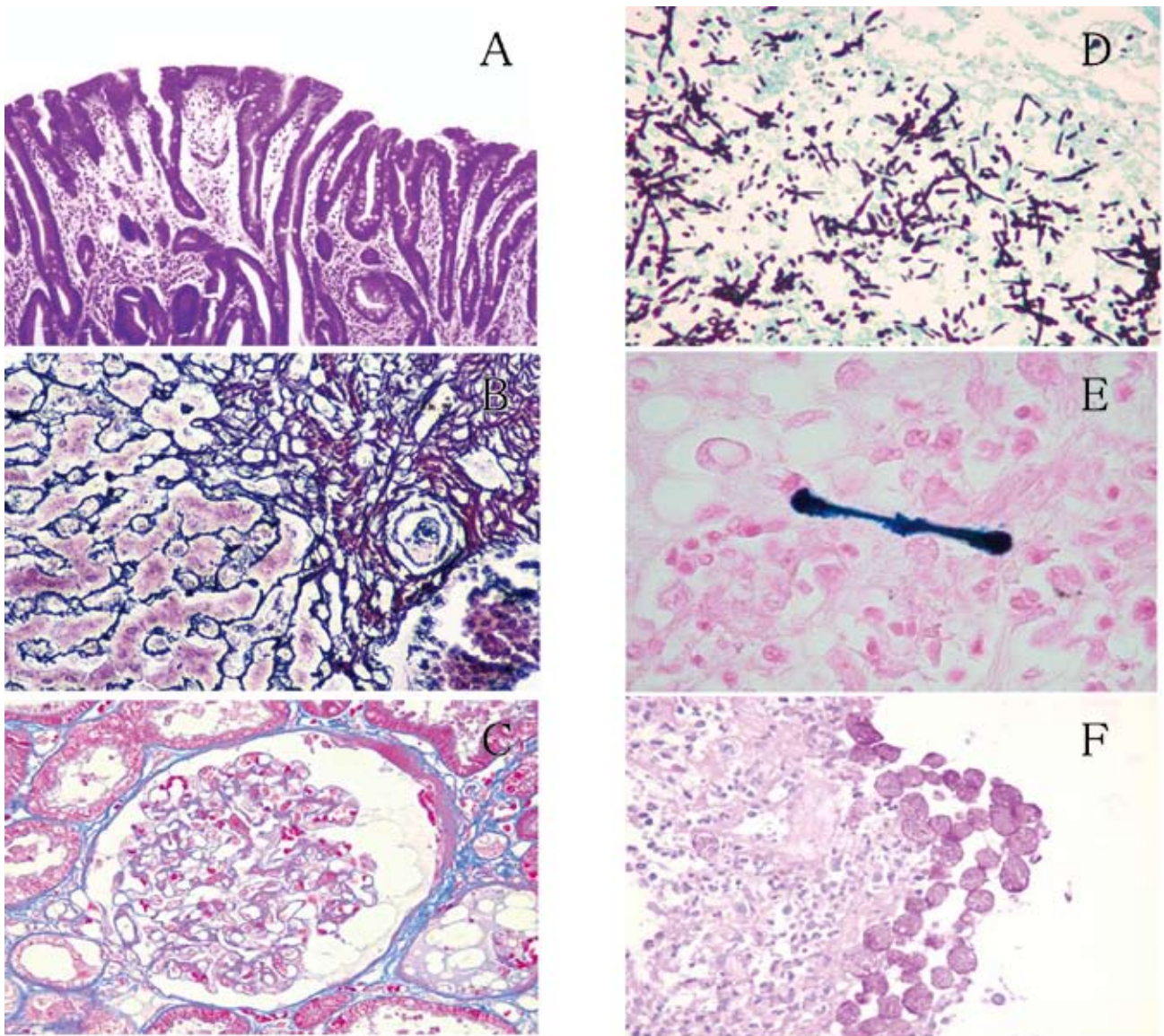
までは人の息を吹きかける事で加湿効果を生み出していたが、バイオハザード、口腔組織のコンタミネーションなどが問題視されている。近年は、薄切専用の加湿器がメーカーから発売されており、そのような問題は回避されつつある。薄切した切片は水に浮かべ、スライド硝子に載せ伸展板(写真9)にて1日乾燥を行う。

(4) 染色

薄切が終わり乾燥させると次は染色の工程である。薄切した組織標本の大部分は無色透明で観察に適さない。これを染色する事によって組織の構造を明確に観察する事が出来る。染色とは組織の成り立ちを明確にする目的で行う工程であり、一般染色と特殊染色がある。

一般染色とは病理組織学に欠かせない基本染色法であり、ヘマトキシリン・エオジン染色(以下、HE染色)がその代表である。HE染色はヘマトキシリン色素とエオジン色素を用いて標本全体を紫色とピンク色に染め分けを行う。

さらに、HE染色で診断不可能な場合や組織内特殊成分の機能的な診断、組織診断の確認の目的で特殊染色が実施される。特殊染色は50種類以上あり、病理医の指示の元、さまざまな染色を日々行い、病理学的診断の補助を行っている。



色々な染色 (HE 染色と特殊染色の代表例)

(A) HE 染色 (胃粘膜) (B) 渡辺の鍍銀法 (細網線維・肝臓) (C) マッソントリクローム染色 (膠原線維・腎臓) (D) ベルリンブルー染色 (鉄成分・アスベスト小体) (E) グロコット染色 (真菌・アスペルギルス) (F) PAS 染色 (多糖類・赤痢アメーバ)

3. まとめと今後の課題

病理標本作製は切り出しから染色までの工程を行い1枚のプレパラート標本が完成される。標本作製技術の習得には長い年月を有し、優れた技術を習得できるものである。今後はレベルの高い技術を習得する為にも研修会等に参加しスキルアップを図っていきたい。