

組織切片自動作製装置の 薄切精度向上への取り組み

吉田 美帆^{1)†} 倉岡 和矢¹⁾²⁾³⁾ 菅 亜里紗¹⁾ 安村 奈緒子¹⁾
坂根 潤一¹⁾ 西村 俊直¹⁾ 谷山 大樹¹⁾ 在津 潤一¹⁾
齊藤 彰久¹⁾ 仲野 秀樹²⁾ 尾上 隆司²⁾³⁾ 谷山 清己⁴⁾

IRYO Vol. 71 No. 6 (256-263) 2017

要 旨

〔目的〕病理診断業務の標準化には、病理組織標本作製工程の自動化が必要である。国立病院機構呉医療センター・中国がんセンターでは、2013年9月に組織切片自動作製装置（AS-400M；株式会社大日本精機，京都）を導入した。2014年4月までは不良標本作製率が31.5%と高かったため、不良標本作製率の減少を目指した。〔対象〕2014年5-12月と2015年5-8月の手術材料組織パラフィンブロック（PB）15,175個（消化管，子宮，前立腺，胎盤，リンパ節等）を対象とした。なお，過度の石灰化や極小検体は自動標本作製対象から除外した。〔方法〕自動作製された標本は，病理診断に支障のあるものを不良とし，その判断は病理専門医が行った。初期検討期間中に不良標本となった原因を詳細に検討し，自動薄切条件，自動薄切前処理方法の見直しを行った。そして，2014年5-12月に作製されたPBを対象に，i）刃傷の原因となる手術糸やステープラーは切り出し時や用手法による面出し時に取り除くことを徹底した。ii）AS-400M内の薄切速度や加湿時間などの薄切条件を4種設定した（検討Ⅰ）。検討Ⅰ期間中の不良標本作製理由は，スライドガラスへの切片の貼り付き不良による切片剥離や刃傷であった。2015年5-8月に作製されたPBを対象に，更なる自動薄切前処理方法の工夫を行った。i）微小な刃傷が入るPBは，用手法による面出し薄切後に約2-3時間かけて表面脱灰を実施した。ii）切片下部側の面出し不良が発生したため，検体の包埋位置を少し上目とした。iii）自動薄切時の機器エラーを軽減させるためにPB周囲のパラフィン除去を徹底的に行った（検討Ⅱ）。〔結果〕スライドガラスへの切片貼り付けが改善し，不良標本作製率は検討Ⅰで23.2%（2,244/9,667個）と減少し，検討Ⅱで4.2%（234/5,508個）と著明に減少した。〔結語〕本検討では，AS-400Mの種々の条件や作業方法を細かく調整し，その実行を徹底したことで不良標本作製率が著減し，病理業務効率化および内部精度管理に繋がった。

キーワード 組織切片自動作製装置，薄切，自動化，内部精度管理

1) 国立病院機構呉医療センター中国がんセンター 病理診断科 2) 同 臨床検査科 3) 同 臨床研究部 4) 同 院長 † 臨床検査技師

著者連絡先：吉田美帆 呉医療センター中国がんセンター 病理診断科 〒737-0023 広島県呉市青山町3番1号

e-mail: tanakam@kure-nh.go.jp

（平成28年7月22日受付，平成29年3月10日受理）

Improved Procedures for an Auto Slide Preparation System

Miho Yoshida¹⁾, Kazuya Kuraoka¹⁾²⁾, Arisa Kan¹⁾, Naoko Yasumura¹⁾, Junichi Sakane¹⁾²⁾, Toshinao Nishimura¹⁾, Daiki Taniyama¹⁾, Junichi Zaitou¹⁾, Akihisa Saitou¹⁾, Hideki Nakano²⁾, Takashi Onoe²⁾³⁾ and Kiyomi Taniyama¹⁾, 1) Department of Diagnostic Pathology, NHO Kure Medical Center and Cancer Center, 2) Department of Clinical Laboratory, NHO Kure Medical Center and Cancer Center, 3) Institute for Clinical Research, 4) President NHO Kure Medical Center and Cancer Center

（Received Jul. 22, 2016, Accepted Mar. 10, 2017）

Key Words: auto slide preparation system, section, automation, internal quality control

序 論

病理診断は治療方針決定や予後予測に重要である。精度の高い病理診断には、精度の高い標準化された病理標本作製が必須であり、病理診断業務の効率性向上と標準化には、病理組織標本作製工程の自動化が必要である。病理組織標本作製工程は、複雑であり、人為的ミスも起こりやすい。とくに、薄切工程は、病理技師の高い技術と経験が必要であり、手作業工程であるため検体取り扱いなどの危険性が高い¹⁾。

国立病院機構呉医療センター・中国がんセンター（当センター）では安全性や機能面で高機能化された組織切片自動作製装置（AS-400M；株式会社大日本精機、京都）を、2013年9月に導入し、日常病理業務に利用している²⁾。しかし、導入時から2014年4月まで（初期検討期間）のAS-400M³⁾を用いた不良な自動標本作製率は31.5%（1,153/3,659個）であり改善が望まれた。

組織切片自動作製装置について

AS-400Mは、セットされたPBから薄切された切片を特殊なプラスチックフィルムに貼り付け、カセットバーコードの読み取りからスライドガラスへのバーコード情報の印字、切片の転写、伸展、乾燥までの工程を自動で行う装置である。AS-400M庫内は、温度（ $17-18 \pm 2^\circ\text{C}$ ）と湿度（ $50 \pm 5\%$ 前後）が一定に管理されている。また、専用のソフトウェア（LK-400；株式会社大日本精機、京都）により病理システムと連携が可能である。機械によるバーコード管理が行われるため、オンラインされていない機器を使用した際に必要となる患者情報などの入力作業が軽減し、入力ミスの防止や手作業による薄切時に起きる検体取り扱い防止に繋がる。薄切刃は、FEATHER社製ミクロトーム替刃（A35）を用い1回に最大96個のパラフィンブロック（PB）、400枚を薄切することが可能である²⁾。なお、AS-400Mは、クラスⅠ／一般医療機器として医療機器製造販売届出番号を取得済みである。

目 的

組織切片自動作製装置の不良標本作製率を減少し、自動化機器の精度向上を図る。

対 象

2014年5-12月と2015年5-8月の手術材料組織（PB）15,175個（消化管、子宮、前立腺、胎盤、リンパ節等）を対象に、AS-400Mで組織切片自動作製を行った。過度の石灰化や極小検体は自動標本作製対象から除外した。また、切片の剥がれ、シワ、刃傷等により病理専門医が病理診断することに支障をきたした標本を不良標本とした。

方 法

不良標本について分析・検討し、改善を加えた。

1. 初期検討期間の不良標本の内訳

初期検討期間中に作製された不良標本（1,153枚）の内訳は、スライドガラスへの切片の貼り付き不良による切片剥離717枚（62.2%）、石灰化・糸などによる刃傷379枚（32.9%）や切片のシワ57枚（4.9%）であった。

2. 検討Ⅰ

検討Ⅰの対象PB9,667個すべてに対して用手法にて面出しを行い薄切面の情報を得た後、i) 刃傷の原因となる手術糸やステープラーは切り出し時や用手法による面出し時に取り除くこととした。また、ii) AS-400Mの薄切速度や加湿時間、0.1%酢酸水滴下量の調整を行い、「A」「B」「C」「D」の4種を自動薄切条件設定した（表1）。

3. 検討Ⅱ

検討Ⅰの不良標本を分析した上で、2015年5-8月のPB5,508個を対象に、表2と図2に示す自動薄切前処理方法の工夫点（6項目）を科内で徹底した。なお、検討Ⅰと同様にすべてのPBに対して用手法にて面出しを行った。

結 果

業者設定に微調整を加えた著者設定初期自動薄切条件と自動薄切前処理方法の見直しを行い、改善を加えたことで不良標本作製率は検討Ⅰで23.2%（2,244/9,667個）に減少した（表3）。自動薄切した9,667枚の標本の中で、不良標本となった2,244枚の原因は、スライドガラスへの切片の貼り付き不良

表1 AS-400M 自動薄切条件 (検討Ⅰ)

4 μ m薄切条件	A	B	C	D
薄切速度 (mm/s)	40	35	50	40
未貼付時の薄切速度 (mm/s)	40	35	50	40
プラスチックフィルム速度 (%)	91	91	91	94
加湿時間 (sec)	3	5	2	1
伸展時間 (sec)	30	25	25	25
0.1%酢酸水滴下量 (μ l)	80	80	80	30
該当臓器	消化管系, リンパ節, 乳腺, 全臓器対応可	子宮筋腫, 子宮頸部円錐切除, 前立腺等	胎盤, 脾臓, 肝臓	培養細胞株

表2 検討Ⅰの不良標本分析結果と自動薄切前処理方法の工夫点 (検討Ⅱ)

項目	検討Ⅰ 不良標本分析結果	工夫点	図
i 検体包埋位置	切片下部側の面出し不良が発生	検体の包埋位置を少し上目に行う	図2a
ii PB周囲のパラフィン除去	パラフィン付着によりPBを掴むアームが滑り機械エラーが発生	手作業によるPB周囲パラフィン除去を徹底的に行う	図2b
iii 微小な石灰化の脱灰処理	微小であっても刃傷が発生	微小な刃傷が入るPBは用手法による面出し薄切後, 約2-3時間脱灰液 (KCX: 水 = 1: 1) に浮かせて脱灰処理を行う	図2c
iv 荒削り方向	消化管組織で筋層部分の虫食い (空隙のアーチファクト) が発生 (荒削り方向が消化管組織の粘膜面と刃の走行が並行)	【PB試料台への設置方向】 消化管組織の粘膜面 (右向矢印) と刃の走行 (下向矢印) が垂直	図2d
v 荒削り時の薄切速度	荒削り時に息を吹きかけることなく速い速度で薄切刃を動かすと, 筋層部分が白くなり虫食いが発生	荒削り時PB表面に息を吹きかけPB表面を湿らせる薄切刃の速度は1.5秒/回 (通常0.6秒/回) とする	図2d
vi PBセットの位置	刃傷が発生すると次のPBに刃傷を持ち越す	AS-400M内では4PB薄切毎に替刃交換のため, 刃傷が入りそうなPBはあらかじめ4の倍数の位置にセットする	図2e

による切片剥離1,395枚(62.2%)(図1a), 石灰化・糸などによる刃傷738枚(32.9%)(図1b,c), 消化管組織の筋層部分の虫食いや用手用による面出し時のブロック面の傾斜による面出し不良111枚(4.9%)であった。また, 乳腺, 食道, 甲状腺の3臓器では不良標本作製率がそれぞれ, 31.4%, 43.0%, 34.6%と3割を超えていた(表3)。それぞれの不良原因として, 乳腺は脂肪組織の脱脂不良による切片の剥がれや面出し不良, 消化管組織は粘膜部のシワや筋層部分の虫食い像, 甲状腺はコロイド部分の伸展不良や石灰化にともなう刃傷によるものであった。脂肪組織の脱脂不良に対しては, 病理専門医の協力を

得て1ブロック内の乳腺組織の厚みを5mm厚以下になるよう切り出しを行った。また, 病理技師は, 脱脂を行う薬液(アセトン)交換頻度を高め, 脱脂容器内のブロック数を減らし脱脂効果増大を図った。さらなる細かい工夫を行った検討Ⅱでは不良標本作製率が4.2%(234/5,508個)と著明に減少した(表4)。その結果, 不良標本を除いた良好な組織切片自動作製率は, 初期検討期間平均68.5%から, 種々の工夫を経て検討Ⅱでは平均95.8%と著明に改善した(図3)。

表3 2014年5月～12月の臓器別自動標本作製率（検討Ⅰ）

臓器	不良標本作製率（％）	薄切不良PB数/総PB数（個）
乳腺	31.4	449/1,430
子宮	22.6	175/775
円錐切除	22.3	57/255
卵巣	21.5	56/260
胎盤	22.2	94/423
ESD(剥離術)	18.3	38/208
食道	43.0	43/100
胃	25.1	98/390
腸	26.1	168/644
胆嚢	27.3	54/198
虫垂	20.0	12/60
肝臓	17.3	46/266
肺	22.2	100/450
腎臓	28.3	88/311
前立腺	21.7	151/697
甲状腺	34.6	9/26
脾臓	23.6	29/123
リンパ節	19.7	188/952
迅速検体	23.3	39/167
その他	20.6	81/393
計	23.2	2,244/9,667

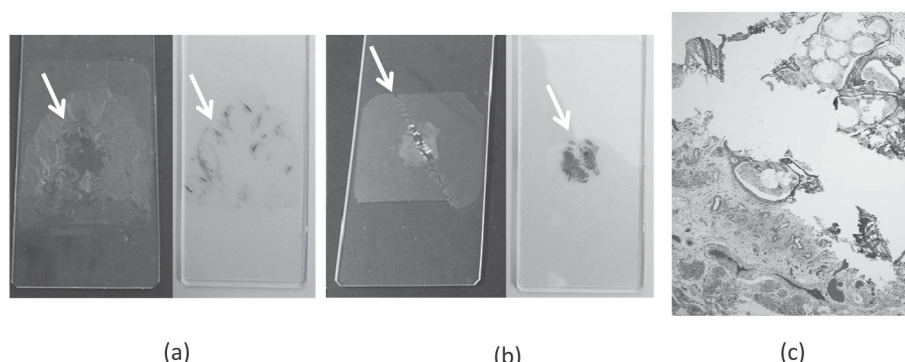


図1 不良標本例

- a：貼り付き不良による切片剥離例（乳腺）（左：未染色像，右：ヘマトキシリン・エオジン染色像）
b：糸による刃傷と顕微鏡像（卵管）（左：未染色像，右：ヘマトキシリン・エオジン染色像）
c：bの不良部分の強拡大像

考 察

現在，個別化医療が進む中で，病理標本の均一化や病理情報の定量化が分子標的治療におけるコンパニオン診断に重要になってきている¹⁾。しかし，病理標本作製工程は手作業が多く，他の臨床検査項目に比べて自動化が遅れている。とくに薄切工程は，

自動化が難しいとされてきた工程の一つである³⁾。本検討で用いた AS-400M は，均一な標本作製と一定の貼り付け位置での連続切片作製が可能である⁴⁾。また，専用のソフトウェア（LK-400）と病理システムとの連携を行うことでバーコード管理が可能となり，患者誤認防止に有効な機器である。

当センターに導入した当初は，放射線科の協力を

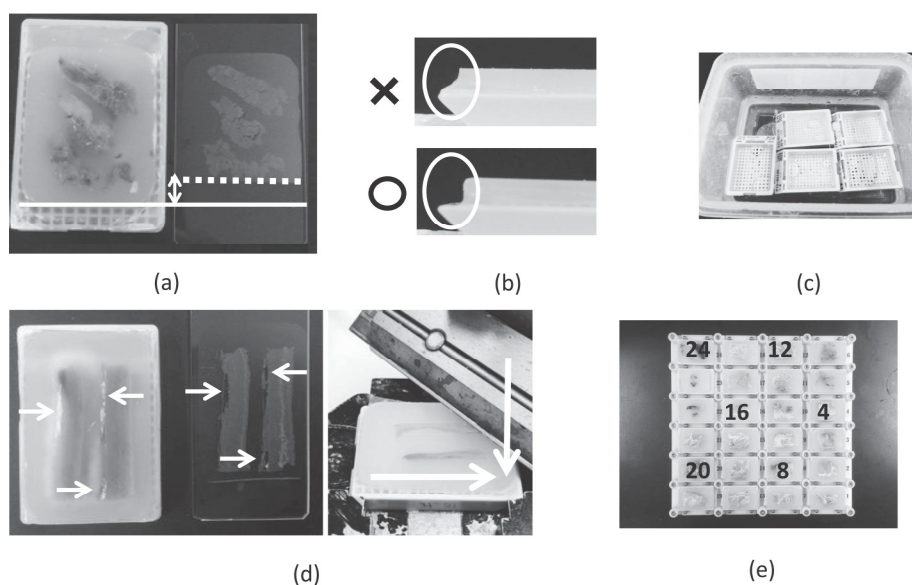


図2 さらなる薄切前準備の工夫点

a：包埋位置の調整 b：PB 周囲付着パラフィン除去 c：微小石灰化の表面脱灰方法
d：消化管組織：薄切方向の工夫 e：装置内 PB セット順番の工夫

表4 2015年5月-8月の臓器別自動標本作製率（検討Ⅱ）

臓器	不良標本作製率（％）	薄切不良PB数/総PB数（個）
乳腺	3.7	34/910
子宮	8.7	56/644
円錐切除	0	0/148
大網	3.5	4/115
胎盤	1.1	2/189
ESD	3.2	11/340
食道	14.8	12/81
胃	3.0	11/365
腸	4.1	14/344
胆嚢	1.0	1/103
虫垂	4.3	2/47
肝臓	10.3	7/68
肺	6.9	13/188
腎臓	0	0/127
前立腺	3.0	8/270
甲状腺	37.0	20/54
膵臓	4.8	6/125
リンパ節	1.6	12/761
迅速検体	0	0/133
その他	4.2	21/496
計	4.2	234/5,508

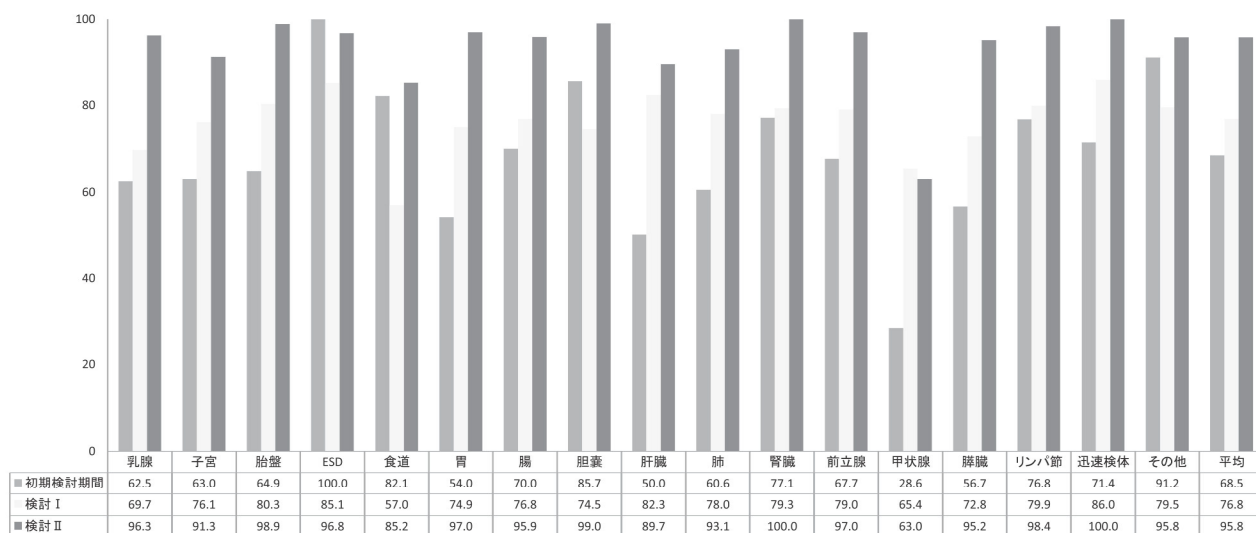


図3 初期検討期間・検討Ⅰ・検討Ⅱの良好な組織切片自動標本作製率の推移（臓器別）

得て組織ブロック CT 撮影にて0.5 mm 以上の石灰化物質の同定を行った後に AS-400M で自動薄切するものと用手法で薄切するものに分けて運用していた。CT 画像で抽出可能な石灰化を含まない組織 PB を対象に業者設定条件にて自動薄切した初期検討期間では、診断に支障のある不良標本の作製率は 31.5% と高かった。その中でも、甲状腺の不良標本作製率は 71.4% と高く、その都度用手法による再薄切が必要であった。この業者設定した初期条件下で AS-400M を日常業務に使用することは、作業効率が悪く現実的ではなかった²⁾。

そこで、AS-400M による不良標本作製率の減少を目指して、全 PB に対して用手法で面出しを行った後に種々の工夫を加えた。自動薄切切片剥離の原因は、AS-400M 内でプラスチックフィルムからスライドガラスへ薄切切片を転写する際にプラスチックフィルムに薄切切片が残ってしまうという貼り付き不良であったので、庫内の温度を 21℃、薄切付近の温度を 17-18±2℃ の設定とし、酢酸滴下量の調整を行ったことでプラスチックフィルムに薄切切片が残る頻度が減少した。刃傷の原因は、石灰化や糸・ステープラーの残存によるものであった。対策として、用手法同様に石灰化に対して PB 表面に対する脱灰を行い、糸等の異物は切り出し時や面出し時に除去した。

病理技師は薄切時、経験的に臓器の種類や大きさ、固さに応じて薄切方法を少しずつ変えている。導入当初、AS-400M の自動薄切条件は一設定しかなかったため、病理技師の経験による臓器別の薄切方法

の違いを参考に、臓器別に自動薄切条件の最適化を行った。薄切条件設定が多いと実用的ではないため、基本設定に加えて、用手法による薄切時に薄切方法を変えている「硬い組織」と「血液成分の多い組織」の 2 種類を別に設定した。伸展時間 30 秒、薄切速度 40 mm/s、加湿時間 3 秒を基本の「A」設定とした。硬い組織「B」は、用手法の薄切時にチャタリングが発生しやすい臓器であるため、機械内での薄切速度を 35 mm/s と基本より 5 mm/s 遅く、加湿時間を 5 秒と基本より 2 秒長めの設定とした。血液成分の多い組織「C」は、薄切時に刃に付きやすい組織は薄切速度を速めることでプラスチックフィルムへの貼り付け状態が改善されたため薄切速度を 50 mm/s と基本より 10 mm/s 速くし、加湿時間を 2 秒と基本より 1 秒短めに設定した。その結果、検討Ⅰでは不良標本作製率は、23.2% と初期検討期間の 31.5% から 8.3% 減少した。

そこでさらなる工夫として、包埋位置の調整、包埋 PB 周囲のパラフィン除去の徹底、微小な石灰化の表面脱灰の徹底、消化管組織の薄切方向の工夫、機械の仕様に合わせた PB 設置時の注意を徹底して行った。その結果、検討Ⅱで不良標本作製率は 4.2% となり、用手法での薄切時と同程度まで減少した。なお、4.2% の不良原因は、厚みのある乳腺等の脱脂不良による切片の剥がれ、消化管の虫食い状の切片の剥がれ、強い石灰化病変による刃傷であり、熟練した病理技師による用手法での薄切でも難しいものであった。

用手法と同等な高い薄切切片作製率を自動薄切装

置で維持するには、自動薄切前処理や日々の機器メンテナンスにこまやかな工夫が大切である。また、病理医と病理技師が自動薄切標本の評価を共有することも自動薄切の精度向上に大切である。PBに対して一切片のみの薄切作業だけであれば用手法のほうが工程は早いですが、AS-400Mを用いた薄切工程の自動化は、薄切切片の一定位置での貼り付けだけでなく、検体間違いなどのヒューマンエラーのリスク低減にも繋がる。連続切片作製では、その導入効果はさらに大きくなる。現在、不良標本を除く良好な標本作製率が95.8%と上昇したことにより、術中迅速診断などで病理技師が忙しい時間帯でも薄切装置が安定稼働している。この間、薄切業務が滞ることはなく、また、従来用手法にて薄切に要していた時間を乳癌免疫組織化学染色標本の画像解析やFISH（Fluorescence in situ hybridization）法、細胞診断等の業務に充てることができ、病理業務効率化に繋がった。

結 語

組織切片自動薄切装置は、標本作製の精度管理、

病理作業効率化やリスクマネジメントに有用である。病理医と病理技師の知識と経験を基にした種々の工夫の積み重ねが自動化機器の精度向上に繋がった。

本論文の要旨は、第69回国立病院総合医学会（札幌）において発表した。

著者の利益相反：本論文発表内容に関連して申告なし。

〔文献〕

- 1) 戸田好信. 病理部門におけるシステム化と人材育成の重要性. 天理医療大学紀要, 2013; 1: 1-6.
- 2) 中川裕可里, 井上三鈴, 田中美帆ほか. 組織切片自動作製装置を用いた病理業務効率化の検討. 広島臨床検査 2015; 4: 7-12.
- 3) 黒住昌史. 組織切片自動作製装置の性能と活用法. Med Technol 2013; 41: 796-801.
- 4) 種子田秀一. 組織切片自動作製装置（AS-400M）のご紹介及び導入事例. 病理技術：病理技術研究会誌 2013; 76(2): 32-4.

Improved Procedures for an Auto Slide Preparation System

Miho Yoshida, Kazuya Kuraoka, Arisa Kan, Naoko Yasumura,
Junichi Sakane, Toshinao Nishimura, Daiki Taniyama, Junichi Zaito,
Akihisa Saitou, Hideki Nakano, Takashi Onoe and Kiyomi Taniyama

Abstract

[Object] The automation of the histopathology specimen manufacture process is necessary for the standardization of pathological diagnosis duties. An auto slide preparation system (AS-400 M ; DAINIPPON SEIKI CO.,LTD. ; Kyoto) was introduced to our center in September 2013. The AS-400 M had a poor specimen manufacture rate from introduction until April 2014 at 31.5% (1,153/3,659 pieces). This study aimed to improve the preparation manufacture coefficient, as the manual re-slice coefficient was high. [Methods] We investigated causes of poor specimens in regards to automatic slice conditions, and reviewed preliminary procedures. Poor specimens posed a problem for pathological diagnosis and confirmation by a pathologist. The main causes for poor specimens were slice section exfoliated by the poor pasting up of the slice. Adjusting slice speed and steam humidification time can be done for four kinds of tissue by automatically setting the slice condition as : A, B, C, D. Additionally, to reduce defective slides due to a cracked specimen, the operators were coached in : (1) embedding in paraffin, (2) shaving off paraffin around the block, (3) decalcifying the surface using KCX (1 : 1) for two to three hours, (4) determining cutting direction, and (5) correct positioning of the slides. Excessive calcification and very small specimens were handled manually. [Results] 1) The poor specimen manufacture rate decreased to 23.2% (2,244/9,667 pieces) from May to December 2014. 2) After investigation and changes in procedures for the above-mentioned device, the poor specimen manufacture rate from May to August in 2015 decreased to 4.2% (234/5,508 pieces), and the re-slice rate decreased. [Conclusions] We investigated use of an auto slide preparation system, procedures and various metrics. After implementing several changes, the preparation manufacture coefficient of tissue sections for the automatic slice apparatus improved, which also facilitated improved utilization for pathology and Internal Quality Control.