

平成30年度第1回蔵本技術部門研修会 「初心者向け病理技術研修」実施報告

蔵本技術部門

研究開発支援グループ* 機能解析グループ**

武市 浩美 (Hiromi Takeichi)*

矢野 雅司 (Masashi Yano)*

堅田 聡子 (Satoko Katada)**

渡邊 明子 (Akiko Watanabe)**

1. はじめに

病気の種類や程度などを診断する病理組織診断は多くの臨床や研究で用いられている。この病理組織診断をするために病理組織標本作製の技術が必要となってくる。

この技術は、多くの研究室において求められる技術であり、技術継承の必要性が高いことから、蔵本技術部門職員に対して研修会を実施したので報告する。

2. 概要

日時：平成30年9月27日(木) 9時30分～12時

平成30年9月28日(金) 9時30分～12時

場所：徳島大学医学部臨床研究A棟8F

皮膚科学分野

講師：技術支援部蔵本技術部門

武市浩美，堅田聡子

受講者：矢野雅司，渡邊明子

主催：蔵本技術部門研修委員会

3. 内容

初心者向けの病理技術研修ということで、あらかじめ固定されている組織を使って切り出しから、薄切、ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色、顕微鏡観察までの実技を行った。

3. 1 固定，切り出し

生体の臓器組織を生きていた時の状態で保持するため、採取した組織はまず固定液に浸ける。固定に用いられるホルマリン原液は37%ホルムアルデヒドを含む水溶液であり、10～20%濃度に希釈された固定液が一般的に利用されている。今回は事前に10%リン酸緩衝ホルマリンで固定された正常皮膚組織を用いた。

固定された組織を厚さ5mm程度に切り出し、専用のカセット容器に入れた(図1)。皮膚のように表皮・真皮の断面が観察できるような組織によって切り出す方向に注意することを解説した。

今回は実施しなかったが、脱脂および脱灰液の種類・方法等についても解説した。



図1 切り出しの様子

3. 2 脱水，置換

容器に入った組織を水洗した後、自動包埋機で脱水，置換を行った(図2)。



図2 自動包埋機

次の工程で用いられるパラフィン水不溶

性のため、はじめにアルコールを用いて組織を脱水した。次に、組織をアルコールとパラフィンの両方に親和性を持つ有機溶剤であるキシレンに置換したのち^[1]、パラフィンで浸透することを解説した。

3. 3 パラフィン包埋

パラフィンを包埋することで組織が一定の硬さになり薄切が可能となる。組織の大きさに合わせた包埋皿にパラフィンを流し入れ、観察したい組織面を下に向けて置いた。その際、組織が浮かないように軽く押さえた後にカセットをのせ、パラフィンを加えて冷却装置で固めた（図3）。



図3 パラフィン包埋の様子

3. 4 薄切

滑走式マイクロトームを使用して組織を2.5 μm の厚さに薄切した（図4）。切片をスライドガラスにのせて広げたあと、伸展器で乾燥させた。今回パラフィン包埋した皮膚以外にも、マウスの臓器のブロックについても同様に切片を作製した。さらに、クリオスタットによる凍結切片作製の実技も行った。

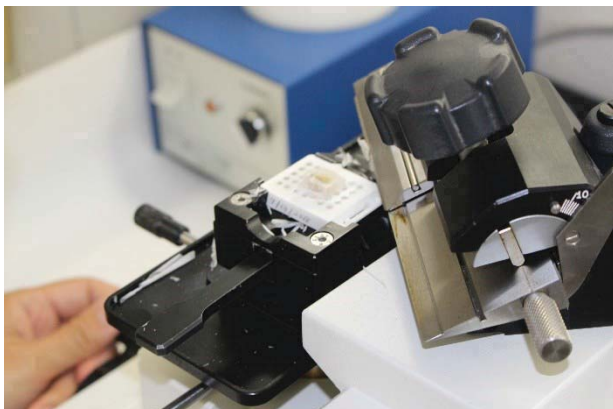


図4 薄切の様子

3. 5 HE染色

病理組織標本の基本であるHE染色を行った（図5）。工程は脱パラフィン系列→水洗→ヘマトキシリン染色→水洗・色出し→エオジン染色→水洗→脱水→透徹→封入の順で行った^[2]。染色液は、進行性染色のマイヤーのヘマトキシリン染色液と酢酸を加えた0.5%エオジン水溶液を用いて行った。



図5 HE染色の様子

3. 6 観察

顕微鏡で実際に作製した標本を観察し、核や細胞質の染まり方、組織構造の観察、切片の厚さのムラ、組織全体が出ているか、メスマーク・しわ・気泡の有無等を確認した（図6）。皮膚を上手にHE染色を行うと図7のような染色像が見られた。

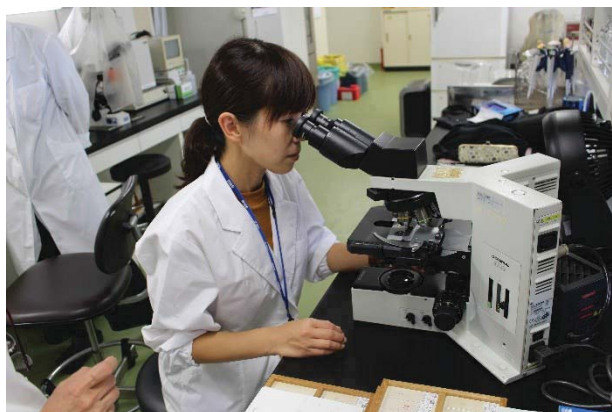


図6 観察の様子

今回作製した標本の中には、組織の面出しが不十分であったり（図8）、スライドガラスの表・裏の拭き間違いがあったり（図9）、封入時の気泡の混入等の失敗が見られた。

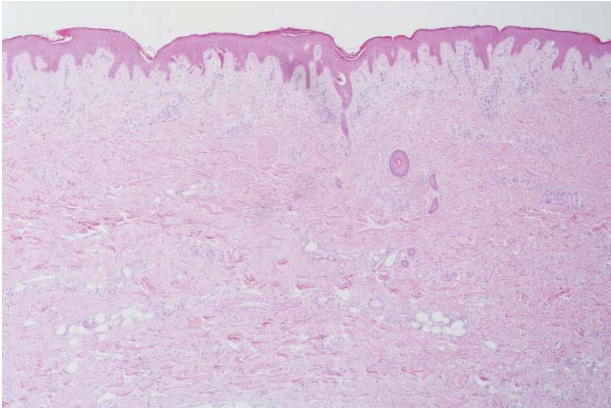


図7 正常皮膚標本

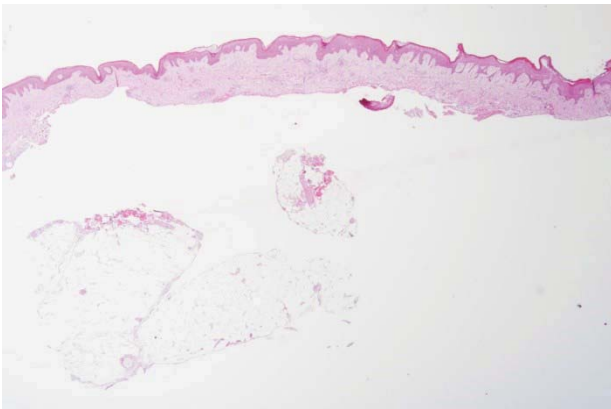


図8 面出し不良標本

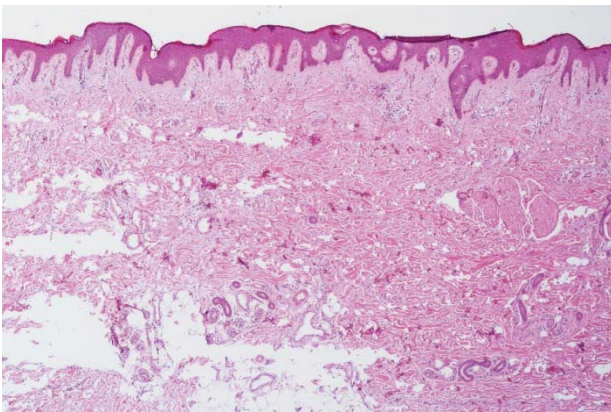


図9 擦過標本

4. 受講者感想

4. 1 矢野雅司

今回の研修を受講して、病理技術に関するより一層の技術及び知識を得ることができた。病理組織標本の作製の経験はあったが、作業及び試薬等について知らなかったことが多々あり、大変勉強になった。

4. 2 渡邊明子

これまで病理組織標本作製の経験がなかったが、実習を交えて体験でき、また2名の講師からこれまでの経験を踏まえて教えていただいたことで、各操作の注意点やその意味を知ることができ、良い経験となった。

5. まとめ

講師としても初めてで、準備も不十分であったとは思いますが、作業をしながらの説明の難しさやポイントを簡潔にまとめる事の重要性を感じた。また、知識を持ち寄る事で新しい発見があったり、改めて勉強する良い機会となった。今回は初心者向け病理技術研修として病理組織標本作製過程の流れに沿って実習したが、短時間での研修のため、特に薄切の技術はコツをつかむのが難しく、習得するためには繰り返し経験を重ねる必要があると思われる。技術職員の一元化により今後はより技術継承の必要があることから、研修等の機会があれば積極的に参加してもらいたい。

謝辞

今回の研修の開催において、大学院医歯薬学研究部皮膚科学分野の久保宜明教授に、実験室および機器の使用に関してご協力いただき感謝申し上げます。

参考文献

- [1] 浅野伍朗, 病理技術詳解 1 検体採取から固定・薄切まで, 1992
- [2] 浅野伍朗, 病理技術詳解 2 染色法, 1992