

資料2 顕微鏡標本作製のprocess

～主に臨床検査技師の行う作業～

2-1 検体採取

はじめに

顕微鏡標本を作製するステップを下図に示す。顕微鏡標本は通常 内視鏡検体2日、手術検体3日で作製される。

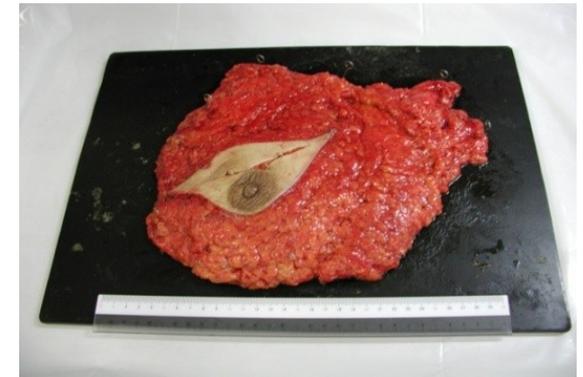
1. 検体採取
2. 固定
3. 切り出し
4. パラフィン浸透
5. パラフィン包埋
6. 薄切
7. 染色
8. 顕微鏡観察

検体採取は通常、臨床医が行う

- 内視鏡を用いる方法(胃、腸、肺など)(図3-1)
- 試験切除(子宮頸部、皮膚など)(図3-1)
- 手術により取り出された組織・臓器(図3-2)



(図3-1)内視鏡(左)、試験切除(右)された組織と固定瓶。



(図3-2)手術により取り出された乳房

2-2 固定

組織の固定には通常 10%ホルマリンが使用される。

固定の目的

- 組織の腐敗を防ぐ
- 組織に一定の硬さを与え切り出しを容易にする

固定の方法

- 浸漬固定(一般的)
組織の変形防止のため板に張り付ける
- 還流固定(特殊な場合)

使用量

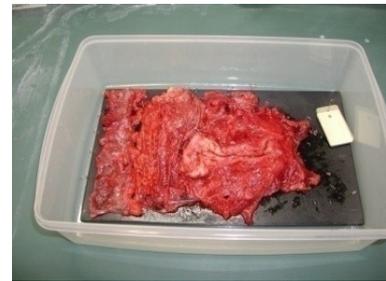
- 組織、臓器の大きさによるが、通常、組織の10~50倍

* 10%ホルマリンはホルムアルデヒド3.7%の水溶液である。



内視鏡(左)試験切除(右)された組織

・小瓶10ml ・中瓶50ml ・大瓶100mlの固定液を使用している



板に張り付けた大腸癌の手術材料を浸漬固定する



板に張り付けた卵巣腫瘍の手術検体を浸漬固定する

2-3 切り出し

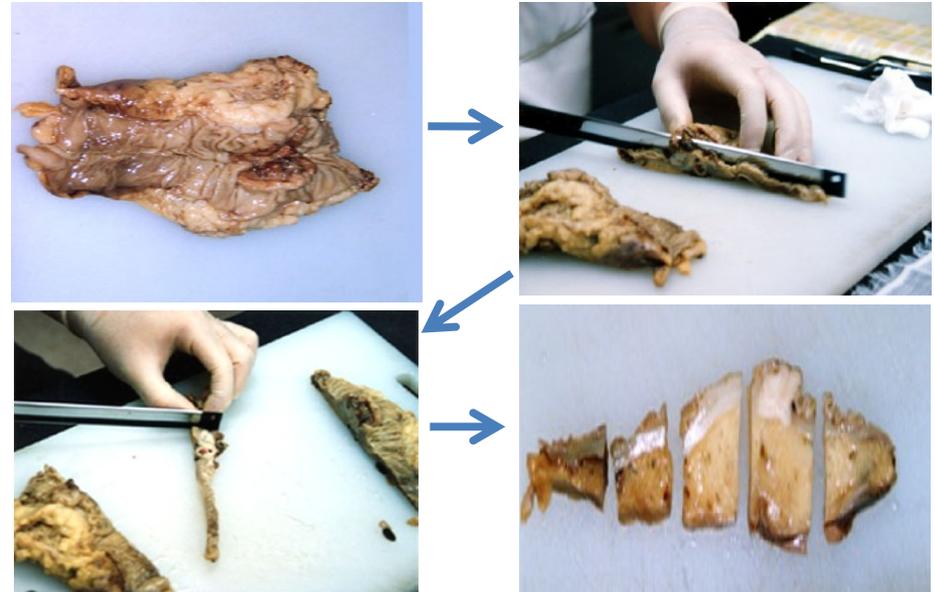
大きな組織(主に手術材料)を病理診断するためには、肉眼的観察が重要である。病理医は顕微鏡による病理診断が的確に行えるよう詳細な肉眼的観察を行い、病変部を選択する。そして、顕微鏡で観察できる大きさに組織をcuttingする(右図)。これら一連の作業を「切り出し」という。

* 各種臓器の癌は、臨床側の学会と病理学会で作製した「癌取り扱い規約」に則り、切り出し、診断がなされる

- 例 胃癌取り扱い規約
- 乳がん取り扱い規約
- 脳腫瘍取り扱い規約



切り出し風景、左 病理医 右 臨床検査技師



2-4 パラフィン浸透・包埋

顕微鏡で組織を観察するためには、光を透過する程 組織の厚さを薄くしなければいけない(約 $3\mu\text{m}^*$)。そのため、パラフィンを用いて組織を処理する。

* $1\mu\text{m}=1\text{mm}$ の1000分の1

パラフィン浸透

アルコール、有機溶剤を用いて組織にパラフィンを浸透させる(図4-1)。

パラフィン包埋

細部までパラフィン浸透させた組織片をパラフィンに固める作業をいう。古典的な方法(図4-2)と包埋装置を用いる方法(図4-3)がある。



図4-1 パラフィン浸透装置(サクラファインテックジャパン)

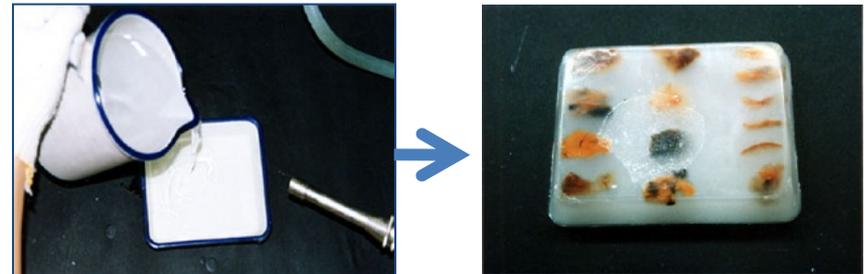


図4-2 パラフィン包埋
古典的な方法(右 パラフィンに固められた組織)

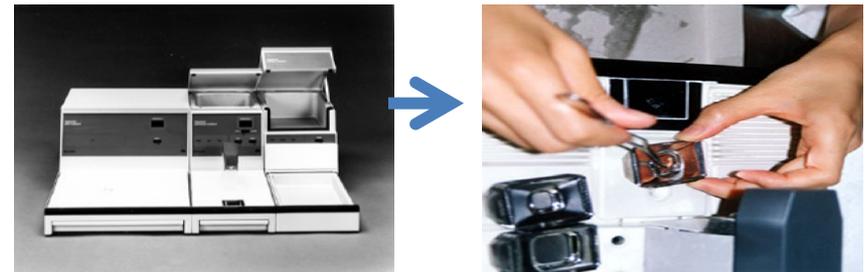


図4-3 パラフィン包埋 包埋装置を用いる方法

2-5 薄切 染色

ミクロトームを使用し(図5-1)、厚さ $3\mu\text{m}$ の切片を作製する。この作業を薄切という(図5-2、図5-3、図5-4)。その後、ヘマトキシリン・エオジン(Hematoxylin & Eosin)染色(図5-5)を行う。HE染色ともいい、細胞の核はヘマトキシリンで紫色、細胞質や結合組織はエオジンで赤桃色に染色される(図5-6)。

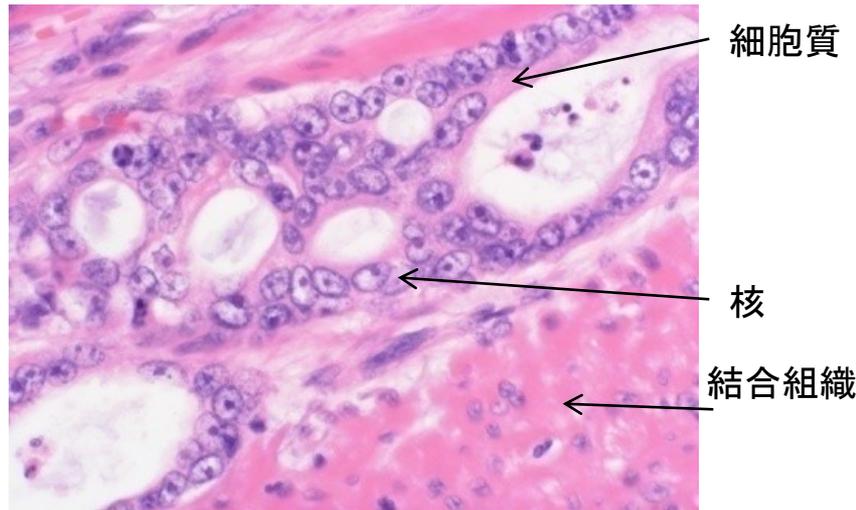


図5-6 400倍で見た胃癌組織



図5-1 ミクロトーム



図5-2 薄切



図5-3切片を水に浮かべる



図5-4ガラスに張り付け乾燥



図5-5 HE染色の系列



資料3 作業環境測定

作業環境測定は6ヶ月以内に1度 作業環境測定士(国家資格)による測定を行い、その結果を評価(管理区分に分類)する。

FAの評価基準は管理濃度0.1ppmである。また、記録および評価の記録保管は30年間である。今回、当院の事例研究を紹介し問題点を洗い出す。

3-1 当院の主な対策

【対策1:換気装置】

切り出し作業場に興研(株)製
プッシュプル換気装置MS-01

【対策2:エアコンの設置】

室温は常時 24°C

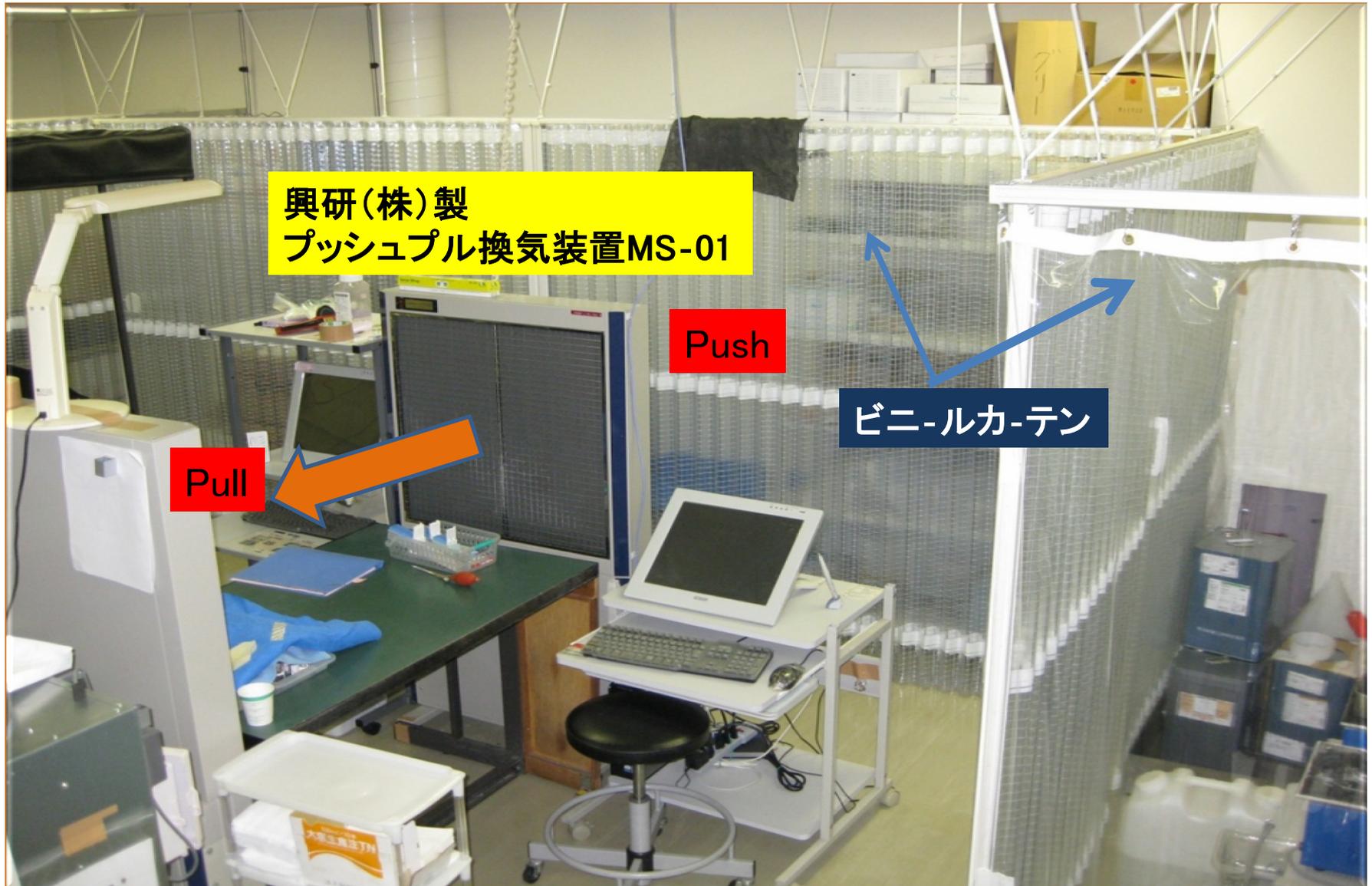
【対策3:ビニールカーテンによる 隔離空間の設置】

固定槽や保管組織対策

【対策4:作業管理の徹底】

- 固定容器に蓋をする
- 液のふき取り
- カーテンはきちんと閉める
- 手を拭く
- 換気装置内作業の徹底

3-2 日本医科大学千葉北総病院 病理部 切り出し室

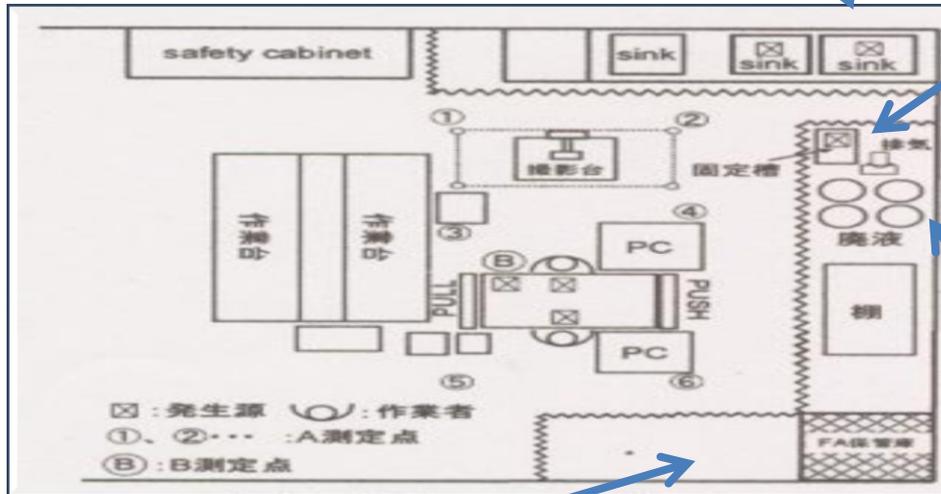


3-3 日本医科大学千葉北総病院 病理部 切り出し室

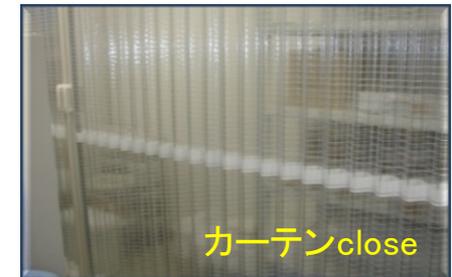
シンク 細いダクトはカーテンを閉めた時中を陰圧にするためである



大きな臓器用固定液槽



切り出し済み臓器保管スペース



薬品保管
スペース



3-4 事例研究

資料2-1から2-3で示した当院の作業環境測定事例研究を紹介する。この結果は2008年11月 京都で行われた第48回日本労働衛生工学会に発表した。

Title 病理診断室のホルムアルデヒド曝露防止
対策用換気システムとその効果

○久保田裕仁、上福元清隆、木村一志、岩崎 毅(興研株式会社)
清水秀樹(日本医科大学千葉北総病院)
中野厚夫、加藤聖一(ちば県民保健予防財団)

1. はじめに

病理診断室ではホルマリンで固定処理された検体を用いるので、医療従事者はホルムアルデヒドに曝露する危険性が高いと考えられる。最近、特定化学物質障害予防規則が一部改正され、ホルムアルデヒドが従来の第3類から第2類に変更され、管理濃度も0.1ppmとなった。これにともない事業者は作業環境を第1管理区分に保つために、換気装置を設置するなどの適切な措置を講ずる必要がある。さらに実際の作業においてはホルムアルデヒド濃度が高くないように、溶液が入っている容器やゴミ箱の蓋をきちんと閉めるなどの作業管理も重要になる。そこで我々は、現状を探るため、病理診断室のホルムアルデヒド濃度がどの程度なのか数箇所の病院を調査した。また、興研株式会社製プッシュプル換気装置を設置した現場においても測定を実施しその効果を確認した。

2. 病理診断室での作業

病理診断室では、生体から採取・摘出された組織の顕微鏡標本を作製し、顕微鏡下で組織・細胞を観察することにより、病気の診断を行う。その際に組織の固定が必要であり、通常固定液として10～20%ホルマリンが使用される。特にホルムアルデヒドが発散しやすい作業として、固定液への臓器の浸漬・注入、固定臓器の水洗い、臓器の切り出し、臓器の撮影、ホルマリンの小分け・分注などがある。

3. 病理診断室の現状調査

東京都内にあるA病院(病床数700以上)とB病院(病床数1,000以上)において、いずれも病理診断室のホルムアルデヒド濃度をDNPH-HPLC法で測定した。測定時の作業は通常通りの切り出し、水洗い、写真撮影などが行われていた。

表1に示したように、ホルムアルデヒドの平均濃度がそれぞれ0.23ppm、0.22ppmと管理濃度の0.1ppmを超えていることが分かった。

表1:病理診断室のホルムアルデヒド濃度(ppm)

	1	2	3	4	5	6	平均
A病院	0.33	0.21	0.19	0.20	0.18	0.20	0.22
B病院	0.21	0.17	0.17	0.18	0.40	-	0.23

4. 換気装置

上述した通り、ホルムアルデヒドが発散する作業として、固定液への臓器の浸漬・注入、固定臓器の水洗い、臓器の切り出し、臓器の撮影、ホルマリンの小分け・分注などがある。固定液への臓器の浸漬・注入は容器に蓋をする、カーテンを設けるなどの拡散防止対策を講ずることができる。また、臓器の水洗い作業も、シンクに蓋をしたりカーテンを設けることでホルムアルデヒドの拡散を防げる。さらに両作業において、作業者は、その場所に常時いることが少なかったため、曝露時間は比較的短いと考えられる。

一方、切り出し作業は時間的に長く、臓器によってはホルマリンを大量に含んでいるので切り出し時に高濃度のホルムアルデヒドが発散する場合がある。したがって固定液への臓器の浸漬・注入、固定臓器の水洗い時にホルムアルデヒドが発散しないような作業管理をしたうえで、切り出し作業時に発散するホルムアルデヒド対策として換気装置を設置すれば効果は高いと考えられる。スペース的に余裕がある場合や、切り出し作業を二人で対面で行ったりする場合などは、興研株式会社製プッシュプル換気装置MS-01が有効であると思われる。このMS-01はプッシュフード、プルフードとも開口面サイズが700mm×700mmであり、プッシュ吹出し風速は0.4～0.8(m/s)の範囲に調節可能である。一方、設置スペースに制約があったり、対面作業がない場合は卓上型の換気システムが有効である。従来のようなドラフトチャンバーだと作業性が損なわれるので、オープンタイプ卓上型プッシュプル換気装置が開発された。装置の概観を図1に示した。風速0.4(m/s)の一樣流が発生するプッシュフードが上方に設置されており、ワークテーブルと一体になった薄型のプルフードが下方にある。必要排気風量は6.3(m³/min)以上と比較的少ないのが特徴である。

5. 換気装置導入後の作業環境測定

C 病院(病床数600)の病理診断室は切り出し作業が対面で行われ作業スペースも広い。また、換気装置を設置するためのスペースも十分にあることから、ホルムアルデヒドの曝露防止対策として、興研株式会社製プッシュプル換気装置MS-01を導入した。固定液への臓器の浸漬・注入、固定臓器の水洗い作業時は蓋やカーテンを設けてホルムアルデヒドが拡散しないよう「開けたら閉める」を徹底するなどの作業管理が行われていた。今回はプッシュプル換気装置が稼働している状態で作業環境測定を実施

した。測定は3つの単位作業場所で行った。表2に測定条件、図2～4に測定点を示した。切り出し作業と撮影は一連の作業とみなし測定した。このときの撮影は時間にして約1分以内であった。

環境濃度測定結果を表3に示した。測定1は第1管理区分となりプッシュプル型換気装置の効果が十分出ている。測定2は第2管理区分であった。これは先に述べた高濃度のホルムアルデヒドが拡散する臓器である肺を扱っていて、かつ、撮影がプッシュプル換気流の外で行われていたからと考えられる。実際、撮影台付近の濃度(測定点①～④)が高くなっていた。

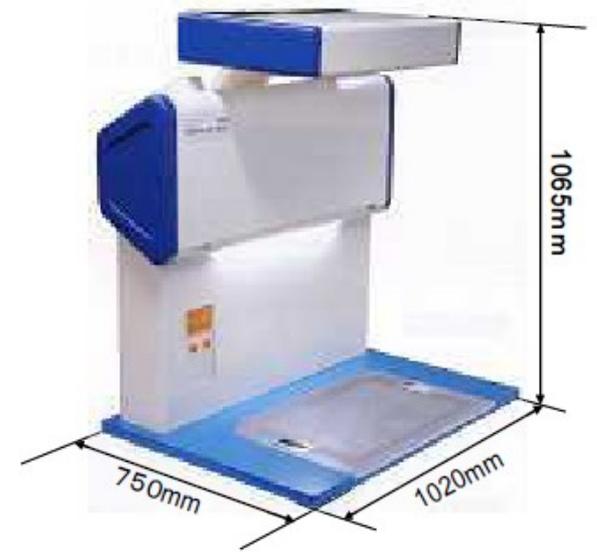


図1:オープンタイプ卓上型プッシュプル換気装置

表 2:測定条件

	測定1	測定2	測定3
作業	臓器の切り出し+撮影	大きい臓器(肺)の切り出し+撮影	固定槽からの取り出し+水洗い
作業時間	約60min	約30min	約30min
作業者	2名	1名	1名
測定点	A:6点、B:1点	A:6点、B:1点	A:5点、B:1点
サンプリング時間	A:60min、B:10min	A:30min、B:10min	A:30min、B:10min
DNPH捕集管	DNPHアクティブガスチューブ(柴田科学製)		
定量ポンプ	柴田科学製 MP-Σ100 H		
サンプリング流量	1.0 ℓ/min		

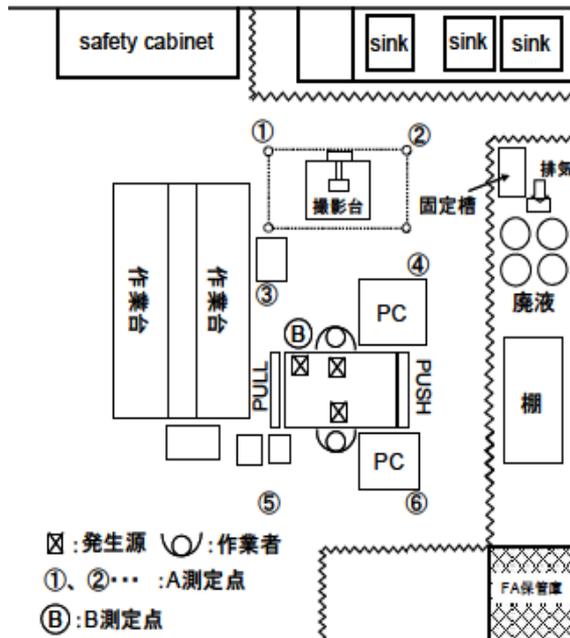


図 2:測定 1 の測定点

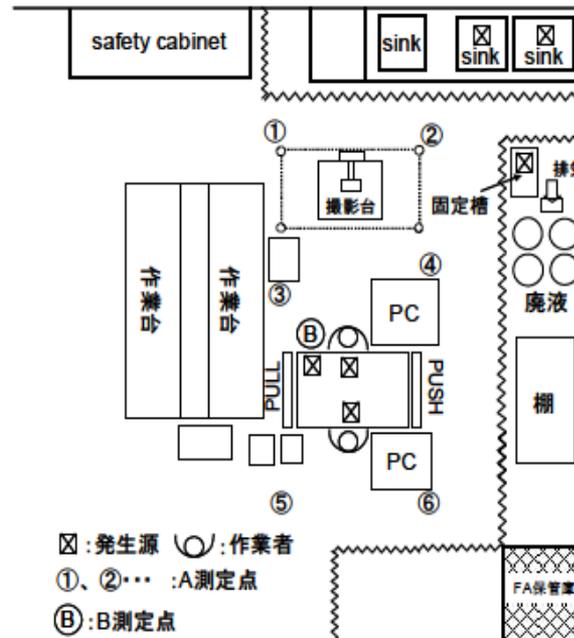


図 3:測定 2 の測定点

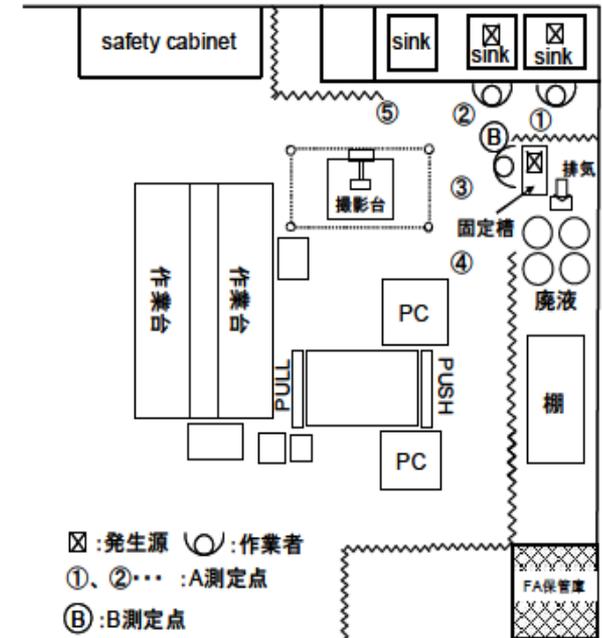


図 4:測定 3 の測定点

表 3:測定、評価結果

測定1	ホルムアルデヒド 濃度(ppm)	測定2	ホルムアルデヒド 濃度(ppm)	測定3	ホルムアルデヒド 濃度(ppm)
1	0.019	1	0.044	1	0.539
2	0.023	2	0.061	2	0.166
3	0.018	3	0.043	3	0.122
4	0.020	4	0.046	4	0.059
5	0.013	5	0.019	5	0.093
6	0.021	6	0.029		
B	0.020	B	0.047	B	0.713
評価結果		評価結果		評価結果	
幾何平均M1	0.019	幾何平均M1	0.038	幾何平均M1	0.143
幾何標準偏差 σ_1	1.218	幾何標準偏差 σ_1	1.511	幾何標準偏差 σ_1	2.301
第1評価値EA1	0.059	第1評価値EA1	0.137	第1評価値EA1	0.828
第2評価値EA2	0.024	第2評価値EA2	0.051	第2評価値EA2	0.253
CB	0.020	CB	0.047	CB	0.713
管理濃度	0.1	管理濃度	0.1	管理濃度	0.1
A測定	EA1<E	A測定	EA1>E>EA2	A測定	EA2>E
B測定	CB<E	B測定	CB<E	B測定	CB/1.5>E
管理区分	第1管理区分	管理区分	第2管理区分	管理区分	第3管理区分

測定3は第3管理区分であった。固定液から臓器を取り出し、水洗いをする作業であり、ときに高濃度のホルムアルデヒドが発散することが確認できた。したがって固定液からの取り出し、水洗い作業などでは、換気装置による曝露防止対策が必要であることが分かった。D病院(病床数241)には図1に示した興研株式会社製卓上型プッシュプル換気装置を設置した。作業は切り出しおよびカセット詰めで作業時間は30分間であった。このときの換気装置近傍の4点のホルムアルデヒド濃度をNPH-HPLC法で測定した。測定の結果、4点の平均で0.026ppmとなり、管理濃度を十分下回っており、換気装置が有効に機能していることが確認できた。

6. まとめと今後の課題

今回の調査で、病理診断室では高濃度のホルムアルデヒドが発散していることが確認された。特に作業者が高濃度に曝露する危険性のある作業として固定液への臓器の浸漬・注入、固定臓器の水洗い、臓器の切り出し、臓器の撮影、ホルマリンの小分け・分注などであることが分かった。換気装置など適切な対策を講じていない場所ではのホルムアルデヒドの平均濃度は0.2ppmを超えていた。ホルムアルデヒドの発散、曝露防止対策として、すでに興研株式会社製プッシュプル換気装置MS-01、および卓上型プッシュプル換気装置を設置した。場所では、同時に十分な作業管理を行ったときのホルムアルデヒドの濃度を測定した結果、管理濃度を十分下回っている。ことが確認された。しかしながら固定槽、水洗いでの濃度は高く、今後、換気装置などの何らかの対策が必要であることがわかった。