

〈総説〉

病理検査の精度管理と品質保証 ～当院での取組も交えて～

国家公務員共済組合連合会広島記念病院中央検査科技師長

永田拓生

はじめに

今日の臨床検査室では精度の高い検査結果を臨床へ届けるため、日々の精度管理及び、それに対する是正と改善が行われている。精度管理の歴史は1947年、Belk & Sundermannによってその概念が初めて提唱されたことにはじまる¹⁾。本邦では、2017年の医療法等の一部を改正する法律（平成29年法律第57号）によって医療機関が自ら実施する検体検査について、その実施が要求されるようになった^{1),2)}。

従来、多くの作業工程で用手的な技術を要する病理検査では、自動染色装置や全自動連続薄切装置が登場したものの、他の検体検査に比べまだまだ自動化、標準化されていない。そのため、病理組織診標本の品質が担当した臨床検査技師（以下、技師）の技術に依存している。また、近年ホルマリン固定パラフィン包埋組織（formalin-fixed paraffin-embedded: 以下、FFPE）を使用した遺伝子検査がさかんに行われ、精度管理及び品質保証の重要性が高まっている。そこで今回、病理検査の各種工程における精度管理や品質保証について、当院での取組も交えてその手法を解説する。

準備すべき作業書、日誌、台帳類

医療機関が自ら実施する検体検査について標準作業書、作業日誌及び台帳関係の常備が必要である。整備すべき文書（医療法上義務及び努力義務とされているもの）を表1にまとめた^{1),2)}。「測定標準作業書」の作成にあたっては法的に定められた内容にとどめるのではなく、新人技師が技術習得の際、この標準作業

書を見ればある程度、作業方法が理解できるような内容にすることが望まれる。「検査機器保守管理作業日誌」には密閉式自動包埋装置や自動染色装置等各使用機器の薬液の交換記録や清掃等の点検項目と実施時期を明記することで計画的な管理が行える。「統計学的精度管理台帳」とはいわゆる内部精度管理実施記録のことで、病理検査では各種染色法における染色態度の評価記録がこれに該当するものとする。

検体受付・採番

検体受付の目的は「多重照合による患者情報の確認と検体取り違い防止」及び「適正な検体処理」の実施である¹⁾。依頼伝票と検体は同時提出を原則とし、どちらかがそろわない場合は受付しない。技師は患者氏名や検体の採取個数や採取部位、臨床情報について検体に貼付されたラベルと依頼伝票の内容が一致することを確認する。この際、「病理検体取り扱いマニュアル」に準拠し、必ず検体搬送者と技師双方2名で行う^{3,4)}。ダブルチェックにより見落としを防止することができる。生検材料では、組織の大きさが微小なものに遭遇することが少なくない。技師が目視で組織を認識できず臨床側に問い合わせた際、相互認識の違いにより問題が生じることがある。また、採番後に依頼伝票の不備や検体の採取個数の不一致が発覚し、再度臨床側への問い合わせや、依頼伝票の修正が必要となることもある。そのため、対面受渡し時のダブルチェックはこの様なトラブル防止に有効である。当院は本運用に改めたことで、この様な問題は生じ

表1 整備すべき文書類

文書名		記載すべき内容
標準作業書	検査機器保守管理標準作業書	「常時行うべき保守点検の方法」、「定期的な保守点検に関する計画」など ※医療機器の添付文書、取扱説明書等をもって本作業書とすることも認められている
	測定標準作業書	検査項目ごとに作成する 「定義」、「臨床的意義」、「測定方法及び測定原理」、「検査手順(フロー等)」及び「基準範囲及び判定基準」については必ず記載すること 「性能特性(測定感度、測定内変動等)」、「検査室の環境条件」、「検査材料(検体量、採取条件等)」、「試薬、機器、器具及び消耗品」、「管理試料及び標準物質の取扱方法」、「検査の変動要因」、「測定上の注意事項」、「異常値を示した検体の取扱方法」、「精度管理の方法及び評価基準」、「参考文献等」は可能な限り多くの物を盛り込むことが望ましい
作業日誌	検査機器保守管理作業日誌	「点検日時及び点検実施者名」、「各検査機器における保守管理上確認すべき内容」、「確認すべき事項について特に付記すべき内容」、「業者による定期保守点検を受けた場合は、その作業内容、点検を行った業者名等」
	測定作業日誌	「検査項目ごとの実施件数」、「実施件数の内、検査エラー又は検査不具合の発生件数」
作業台帳	試薬管理台帳	「試薬の有効期限」、「保管されている試薬の在庫」
	統計学的精度管理台帳	「実施日及び実施検査項目」、「実施者名」、「実施結果(検査エラー値が出た場合の考察等含む)」
	外部精度管理台帳	「受検日(受検申込日、実施団体からの結果報告日等)及び外部精度管理調査実施主体名」

なくなった。

組織固定

組織固定(以下、固定)とは、自家融解や細菌などによる腐敗を停止させ、組織や細胞の蛋白質を変化させて形態や抗原、核酸などの物質を保存することである⁹⁾。固定の善し悪しは染色に与える影響が大きいとされている⁹⁾。写真1に固定不良を認めたリンパ節のヘマトキシリン・エオジン染色(以下、H・E染色)像を示す。組織の一部に固定液の浸透不良が原因と考えられるヘマトキシリンとエオジンの濃染、コントラスト不良を認める(写真1.a)。その機序はホルマリンの浸透速度が遅いためか固定液で固定される前に細胞内から細胞外に水分移動が起きている可能性が示唆されている⁷⁾。同一切片内のもう一方のリンパ節は染色性、コントラスト共に良好で観察しやすい(写真1.b)。

固定液には様々な種類が存在するが、免疫組織化学染色やコンパニオン診断を考慮し「ゲノム診療用病理組織検体取扱い規定」で10%中性緩衝ホルマリン液の使用が推奨されている。この理由として、ホルマリンの種類と濃度がDNAやRNAの品質に及ぼす影響を検討し

た実証データがあり、緩衝作用によりpHが安定している10%中性緩衝ホルマリン液の使用を支持する結果が得られたためである⁹⁾。他に、臓器は摘出後速やかに固定できない際には冷蔵庫など4℃以下で保管し、3時間以内に固定する、固定時間は概ね6～48時間とし固定不足や過固定を回避する、固定液の量は組織に対して10倍量とする等、同規定で推奨されている。これらに対応すべく、検体をホルマリ

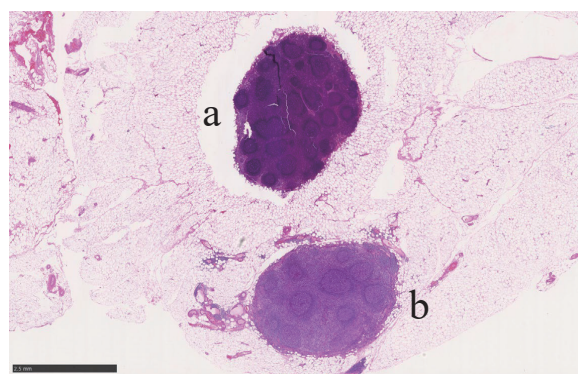


写真1 固定の不具合によるリンパ節の染色不良事例 (H・E染色 対物1.25倍)

aの組織は固定液の浸透不良が考えられ、ヘマトキシリン、エオジン共に濃く染色され、コントラストも不良である。一方、bは染色も適切、コントラスト良好で観察しやすい。

ン液へ浸漬した日時と固定終了日時を記録し固定時間の遵守に努めるべきである。また、ホルマリンの浸透速度が1時間あたり1mmであること⁶⁾を考慮し、大きな組織は適切な厚さで割を入れることも重要である。

固定不良はDNAやRNA、タンパク質の質を極端に低下させるといわれている⁹⁾。これを極力回避する工夫として、当院ではコンパニオン診断用にあらかじめ固定前の手術検体から病理診断に影響のない範囲でサンプリングし、システムカセットに生の状態で入れて固定し、翌日に密閉式自動包埋装置で処理している。これによりコンパニオン診断用の検体は、病理診断用の検体とは別の運用となり臓器摘出後の新鮮な状態で固定され、かつ固定時間も24時間程度に管理することが可能となる。このサンプリング作業は病理医もしくは病理医による指導監督の下、病理検査を熟知した技師や認定病理検査技師が実施すべきと考える。

切り出し・包埋

切り出しとは、固定後の検体から必要な部分を選択し、標本作製に適切な大きさ、形になるように切り取る作業のことをいう⁹⁾。ここでの注意すべき点として、同時に複数の検体を処理しないこと、検体処理前には作業台の清拭、水洗を行い、前検体の組織を残さないこと、切り出し台には十分な作業スペースの確保、整理整頓し作業している患者の検体や使用する器材以外は置かないこと、1行為ごとピンセットやトリミングナイフをディスプレイタイプのタオルなどで拭き取ることなど、コンタミネーションの防止や検体の取り違えに注意を払う必要がある。コンタミネーションの1例として、胆嚢ポリープ症例に腫瘍組織が混入した事例を呈示する（写真2）。この事例が生じた原因を検証したが最も可能性が高いものとして、切り出し又は包埋時における周囲環境の清拭不足やピンセットの拭き取り不良が考えられた。コンタミネーションや検体の取り違えが生じると不必要な手術の実施や治療の遅れが生じ、患者さんに対して重大な不利益が生じかねない。そのため、正しい病理診断を行うためにはこれら検体処理

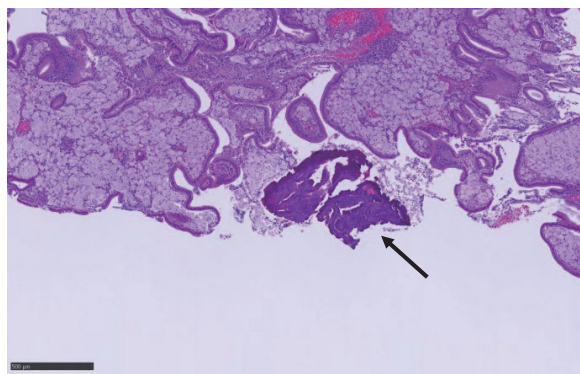


写真2 胆嚢ポリープ症例に腫瘍細胞がコンタミネーション（矢印）した組織像（H・E染色 対物5倍）

には十分配慮すべきである。次に、自動包埋装置での検体処理へと移る。その際、当院では番号記入間違いを防止する目的で検体を装置へ架設する前には切り出しを実施した技師とそれ以外の技師の2名で、システムカセットへの病理番号及び枝番号と依頼伝票及び切り出し図の読み合わせ照合を行っている。

薄切

薄切とは、鏡検の際に病理学的所見を取りやすく顕微鏡像を観察しやすい厚さに組織を切る操作をいう⁹⁾。H・E染色用の切片はFFPEを3～4 μ mで薄切するのが一般的である⁹⁾。写真3に切片の厚さによるH・E染色像の比較を示す。写真3.aではマイクロトームの薄切厚の設定を3 μ mとして薄切した標本で細胞の重なりがなく観察し易い。一方、写真3.bでは同設定を9 μ mとした標本で細胞が重なり、染色性も濃く詳細な観察が困難である。FFPEは冷却した方が薄切しやすいが、薄切中のFFPEの温度上昇の具合で切片厚が変化するためマイクロトームで設定した目盛りより切片が厚くなることを考慮する必要がある。技師のスキルにもよるが、切片の厚さが適切であるかは、切片を水槽の水に浮かべたときや、伸展板上に載せた際に目視での判断が可能である⁹⁾。

薄切では適切に検体が採取されていても、十分に組織面が露出していなければ、正確な診断には至らないため面出し（荒削り）にも注意が必要である。写真4に面出し不十分であったH・E染色像を示す。写真4.aでは粘膜及び

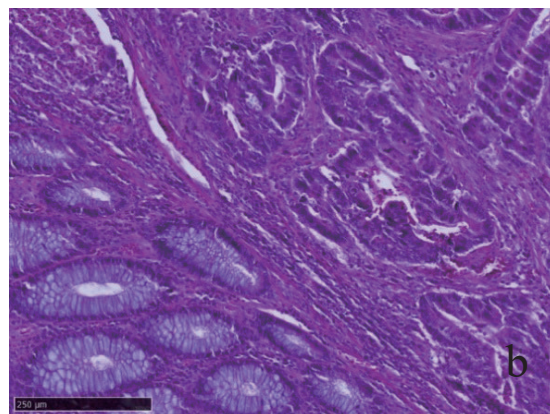
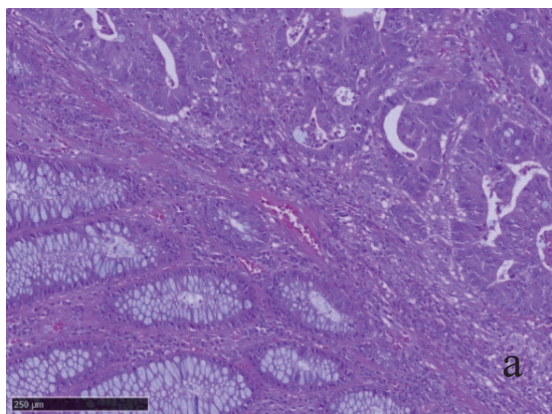


写真3 切片の厚さによる比較（H・E染色 対物20倍 大腸腫瘍組織）

aはマイクロトームの薄切厚の設定を $3\mu\text{m}$ として薄切したもので細胞の重なりがなく観察し易い。
一方、bは同設定を $9\mu\text{m}$ としたもので細胞が重なり、染色性も濃く良好な標本とはいえない。

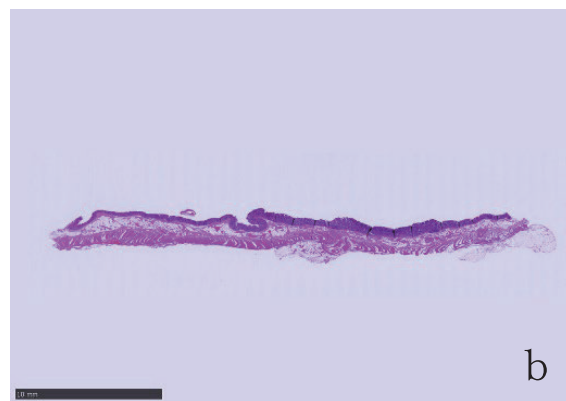
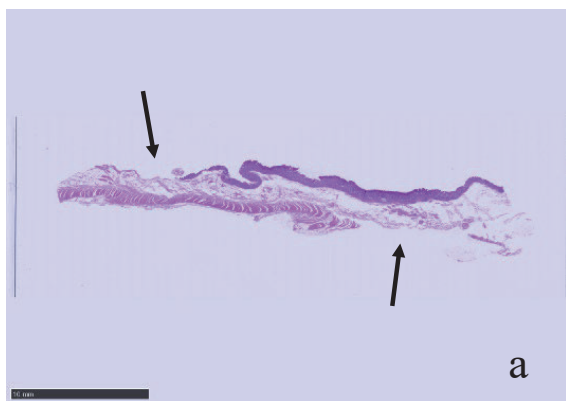


写真4 面出し不十分な組織像の一例（H・E染色 ルーペ像 大腸組織）

aは粘膜及び筋層の面出しが不十分。全面の組織が露出してない（矢印）。
bは適切に面出しされた組織像（aを深切り）

筋層の面出しが不十分なため、全面の組織が露出してない。薄切時には写真4.bに示すように、基本的に包埋された組織が全面出るようにしっかり面出しした上で薄切（本削り）に移行するようにする。また、切片を浮かべる水槽は切片カスが残らないよう常にきれいな状態とし、薄切中の切片以外は浮かせないことを厳守し、コンタミネーションや検体の取り違い防止に努める。

ヘマトキシリン・エオジン染色（H・E染色）

H・E染色は細胞の核をヘマトキシリン、細胞質をエオジンで重染色するもので病理組織診断において一般的な染色法である⁹⁾。自動染色装置を使用している施設では、毎日染色前に事前に準備している自家製の内部精度管理

用標本を染色し、装置の動作確認と染色性の評価を行う。当院では内部精度管理用標本は院内で規定された保管期間を終了し廃棄予定の虫垂の残組織を使用している。この理由として、虫垂には粘膜上皮や血管、リンパ管やリンパ濾胞、中皮細胞、平滑筋など多数の組織が含まれていることによる¹⁾（写真5）。染色性の評価では、染色した内部精度管理用標本を技師が鏡検し「核の染色性が青く明瞭である」こと、「細胞質及び赤血球の染色性が紅く明瞭である」こと、「ヘマトキシリンとエオジンの分別が適切である」ことを観察する。これらの項目についての評価は良好、次回染色液交換、染色不良につき直ちに染色液交換の3段階としている。この評価結果は「内部精度管理表」に記録する（図1）。

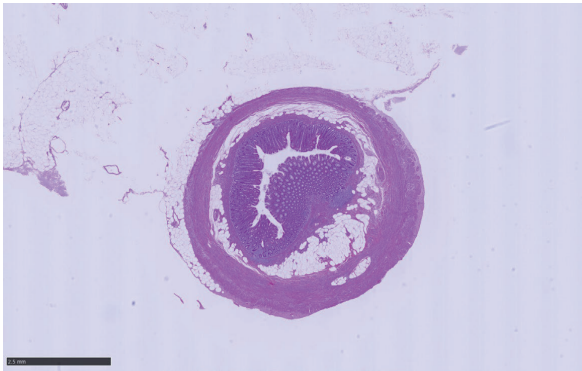


写真5 当院の内部精度管理用標本の組織像（H・E染色 対物1.25倍 虫垂組織）
粘膜上皮、血管、リンパ管、リンパ濾胞、中皮細胞、平滑筋等多数の組織が含まれている虫垂の輪切りを内部精度管理用標本としている。

病理標本の妥当性の確認

完成した染色標本は品質管理とヒューマンエラーの確認を行い、適正と評価されたものを病理診断医へ提出する³⁾。品質管理では完成した染色標本を鏡検し、面出しの状態や組織切片の厚さ、染色性の評価及びコンタミネーションの有無等の評価し、病理診断に適した標本であることを確認する。当院ではヒューマンエラーの確認として、FFPEとスライドガラス標本に記載された病理番号及び枝番号の照合、FFPEの薄切面と染色標本の切片の肉眼的形態の照合及び切片の向きの確認（写真6）、依頼伝票及び切り出し図と染色標本に貼付された検体ラベルの氏名、病理番号、枝番号の

H.E染色内部精度管理表
染色（病理）

実施年月： 年 月

技師長	主任	担当者

A:良好、B:次回染色液交換、C:染色液交換

病理(H.E染色)										
	染色の質			試薬交換						
	核の染色性が青紫色で明瞭 エオジンの分別良好	細胞質・赤血球の 染色性が紅く明瞭	評価者	キシレン		組織脱水溶液A		ヘマトキシリン	エオジン	実施者
				脱バラ槽	透徹槽	脱キシ槽	脱水槽			
1日										
2日										
3日										
4日										
5日										
6日										
7日										
8日										
9日										
10日										
11日										
12日										
13日										
14日										
15日										
16日										
17日										
18日										
19日										
20日										
21日										
22日										
23日										
24日										
25日										
26日										
27日										
28日										
29日										
30日										
31日										

備考 始業時にコントロール標本を染色して染色態度が適正であることを確認する。

図1 H・E染色内部精度管理表

毎日、検体の染色前に内部精度管理用標本を染色し、核や細胞質の染色性を確認し評価、記録する。
また試薬の管理についても、交換した試薬及び実施者を記録する。



写真6 パラフィンプロックとスライドガラス標本との突き合わせ
パラフィンプロックに記載された病理番号及び枝番号とスライドガラス標本に記載された病理番号及び枝番号が同一であること、パラフィンプロックの薄切面と染色された標本の組織の肉眼的形態が同一であるか目視で確認する。

照合を実施している。

外部精度管理

外部精度管理とは同一試料を複数施設に同時に配布して期限を定め参加施設の方法で検査を実施し、その結果から参加施設全体の精密性や正確性を明らかにしていくものである⁹⁾。実際は、組織固定や切り出しの部位や方法、薄切におけるアーチファクト、各種染色像等に関する画像を供覧し設問に回答するフォトサーベイや、各施設に未染標本が配付され、指定された染色を施し評価する技術サーベイなどがある。結果は適正もしくは不適正で評価され、不適正評価は速やかに原因を追及し、是正処置を行う。なお、是正内容は外部精度管理は正報告書を作成し保管することが望ましいと考える。

おわりに

当院での経験や取組を交えて病理検査の精度管理・品質保証について解説した。病理検査は検査成績を定量的に評価することができないため、「 \bar{X} -R管理図法」のような確立した方法がなく、それぞれの施設で手法や運用を定めて実施しているのが現状である。

今後も様々な化学療法薬の開発に伴い、コンパニオン診断は増加の一途をたどることが予測され、より精度の高い病理診断や遺伝子検査が求められると思われる。我々技師はこのことを十分理解、認識し「より質が高く、適切なFFPEやスライドガラス標本」を作製する意識を持って内部精度管理の実施や品質保証に努めるべきである。

文献

- 1) 一般社団法人 日本臨床衛生検査技師会 監修. JAMT技術教本シリーズ 品質保証・精度管理教本. 一般社団法人 日本臨床衛生検査技師会. 東京. 2020.
- 2) 滝野寿. 特集 病理検査室のマネジメント. 病理検体取り違えの防止. 病理と臨床 2023 ; 41 (6) : 582-587.
- 3) 一般社団法人 日本病理学会. 病理検体処理ガイドラインワーキンググループ. 病理検体取扱いマニュアルー病理検体取り違えを防ぐためにー(初版) https://pathology.or.jp/news/pdf/manual_all_160719.pdf (2025年12月5日閲覧)
- 4) 山元英崇, 大久保文彦, 山口知彦. 特集 病理検査室のマネジメント. 病理検査室のマネジメント総論. 病理と臨床2023 ; 41(6) : 562-567.
- 5) 一般社団法人 日本臨床衛生検査技師会 監修. JAMT技術教本シリーズ 病理検査技術教本. 一般社団法人 日本臨床衛生検査技師会. 東京. 2017.
- 6) 一般社団法人 日本病理学会 編集. ゲノム研究用・診療用病理組織検体取扱い規程. 一般社団法人 日本病理学会. 東京. 2019.
- 7) 吉田誠, 小山慧, 後藤明輝. 特集 病理検査室のマネジメント. 染色の精度管理. 病理と臨床. 2023 ; 41(6) : 588-594.

Quality Control and Assurance in Pathological Examinations ~Including Our Hospital's Initiatives

Chief Clinical Laboratory Technologist, Department of Central Laboratory, Hiroshima Memorial Hospital,
Federation of National Public Service and Affiliated Personnel Mutual Aid Associations

Takuo Nagata

Summary The importance of precision control and quality assurance in pathological examinations has increased in recent years, due in large part to enforcement of the Act for Partial Revision of the Medical Care Act and the rise in companion diagnostics. Against this background, this article explains precision control and quality assurance in various specimen preparation processes. For tissue fixation, appropriate processing of formalin-fixed, paraffin-embedded tissue specimens is crucial. This involves using 10% neutral buffered formalin, as recommended in the “Regulations for Handling Pathological Tissue Specimens for Genomic Medicine,” and managing fixation time. For hematoxylin and eosin staining, an internal quality control specimen is stained prior to specimen staining to evaluate the staining quality of nuclei, cytoplasm, and other cellular components. As medical safety measures, compliance with the Japanese Society of Pathology's “Specimen Handling Manual” is important, ensuring that both the clinical laboratory technologist and the specimen transporter double-check necessary items upon specimen receipt. Moreover, contamination during specimen preparation must be prevented. Stained slides are examined microscopically by clinical laboratory technicians, who evaluate specimen adequacy before submission to the pathologist. We believe that diligently implementing these quality control measures and quality assurance efforts will heighten the awareness of clinical laboratory technicians regarding pathology specimen quality, ultimately leading to more accurate pathological diagnoses.

Key words: histopathological examination, quality control, quality assurance, formalin fixation, hematoxylin and eosin staining