

病理標本の膜厚測定機器開発

— 膜厚標準化による標的分子評価と人工知能体系の適正化に関する研究 —

増田しのぶ¹⁾, 中西陽子¹⁾, 廣谷ゆかり¹⁾, 菊池加穂里¹⁾,
阿部仁²⁾, 向井規浩²⁾, 西川喜久³⁾

A study of development of a device to evaluate the tissue thickness of pathological sections: For adequate evaluation of biomarkers and basic platform for artificial intelligence systems by standardization of tissue thickness

Shinobu MASUDA¹⁾, Yoko NAKANISHI¹⁾, Yukari HIROTANI¹⁾, Kaori KIKUCHI¹⁾,
Hitoshi ABE²⁾, Norihiro MUKAI³⁾, Yoshihisa NISHIKAWA³⁾

要旨

病理標本の膜厚測定機器開発を行いプロトタイプ1号機についての動作確認、精度評価を行った。プロトタイプ1号機は、接触式センサーを用い、10枚連続測定可能な仕様とした。1枚のホルマリン固定パラフィン切片 (FFPE) について、スライドガラス表面を基点としてFFPEの膜厚を4点測定し、その平均値をFFPEの厚みとして測定結果を得た。求められる膜厚測定の精度には、大幅な改善の余地があることが明らかになった。今後、測定部の精度を向上させたプロトタイプ2号機を開発し、動作確認、精度評価を行う。

1. はじめに

病理診断は、身体から採取された組織のホルマリン固定パラフィン包埋切片 (formalin fixed paraffin embedded sections, FFPE) を用いて行なわれる。組織内の状態を適切に観察するための第一段階として、適切な検体取扱いとともに、適切な標本作製が重要となる。

本研究開始の契機となった乳癌診療においては、バイオマーカーであるホルモン受容体 (エストロゲン受容体, ER; プロゲステロン受容体, PgR), HER2の発現状況と増殖活性マーカーである Ki67陽性率によって、薬物療法の治療選択が行われる。すなわち、ER陽性症例には抗ホルモン薬が、HER2蛋白高発現あるいはHER2遺伝子増幅を伴う症例には抗HER2抗体療法が、また、いずれも陰性の症例には、抗がん剤の適応となる。HER2蛋白に対する免疫染

色結果により抗HER2抗体療法の適応が決定されるため、その精度管理が重要となる¹⁾。

以上のように、病理診断、免疫組織化学的検討において、膜厚は重要な要素であるにもかかわらず、現在まで十分な精度管理の対象となっていない。通常、FFPE切片の薄切は、ミクロトームを用いて厚みを設定して行われる。しかしながら、実際の膜厚は、薄切環境 (湿度や温度) により影響を受けることが知られており、実際に薄切されたFFPEの膜厚は不明である。よって、われわれは、膜厚コントロールシステムの開発が喫緊の課題であるとの認識に至り、本研究を開始することとなった。

2. 対象及び方法

(1) 本研究による開発機器のコンセプト

現在、膜厚測定用の先行機器は存在しない。工業

1) 日本大学医学部病態病理学系腫瘍病理学分野

2) がん研有明病院臨床病理センター

3) (株)西川精機製作所

増田しのぶ: masuda.shinobu@nihon-u.ac.jp

表 1 工業用測定システムとの対比による本研究開発機器のコンセプト

	工業用測定システム	本研究開発機器
測定範囲	～ 80 μm	4 $\mu\text{m} \pm 10\%$ 誤差を中心する範囲
機器の使用目的	工業製品に対して汎用的使用を想定	膜厚測定に限定
価格	高価	市中病院で購入可能な価格帯

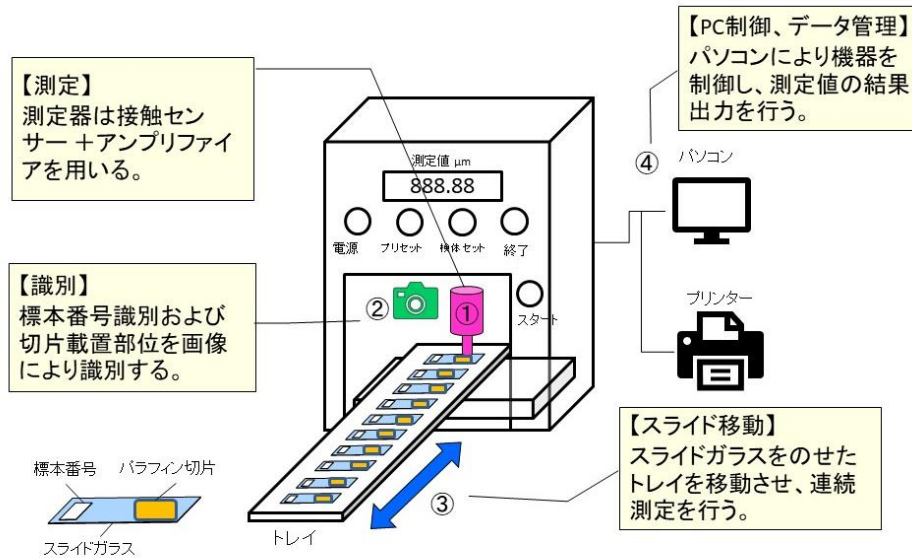


図 1 膜厚測定機器の開発計画

用の非接触表面・層断面形状計測システム（光干渉方式初高精度表面形状計測）との対比により、本研究による開発機器のコンセプトについて検討した（表1）。

(2) 本研究における機器開発の構想

本システムを、①測定部、②標本識別部、③スライド移動部、④PC制御、データ管理部から構成することとした（図1）。

(3) 工業用測定システムによる膜厚測定結果と比較検討することにより、精度評価を行った。

3. 結果

搬入されたプロトタイプ1号機（図2）について、以下の検討を行った。

(1) 機器の動作確認

①測定部、②標本識別部、③スライド移動部、④PC制御、データ管理部それぞれについて、動作確認を行い、設計通りに動作することが確認された。

(2) 測定精度の評価

薄切機器マイクロームで4 μm に設定し、あらかじめ工業用測定システムにより膜厚を測定したFFPE標本10枚について、開発機器により膜厚を測定し、以下の結果を得た。FFPEの時間的経過による変化の有無をみるために、同一切片について、13回（8/23～9/28）測定した。

a. 測定結果の概要

現時点での膜厚測定結果は、大きく改善が必要なレベルであった（図3）。

b. 時間的経過によるFFPEの膜厚変化の有無

時間的経過による大きな変化は認められなかった（図4）。

c. 検体毎の測定値の差異

検体によって、測定値に多少の差異が指摘された（図5）。

d. 測定部位による測定値の差異

測定部位によって、膜厚には統計学的に有意差が指摘された（ $p < 0.05$ ）。スライドガラス切片の対角



図2 プロトタイプ1号機
((株)西川精密製作所納品報告書、取扱説明書より)

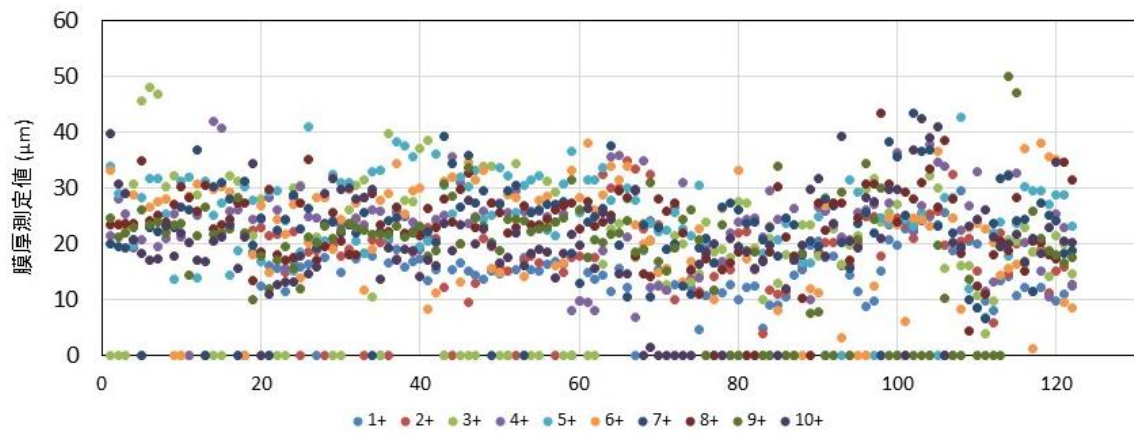


図3 プロトタイプ1号機の測定値分布

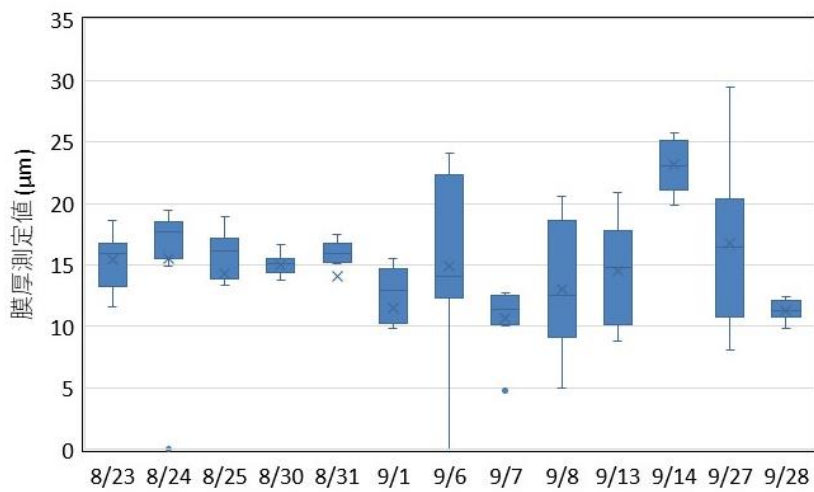


図4 時間的経過による膜厚の変化(サンプル1)(2022年)

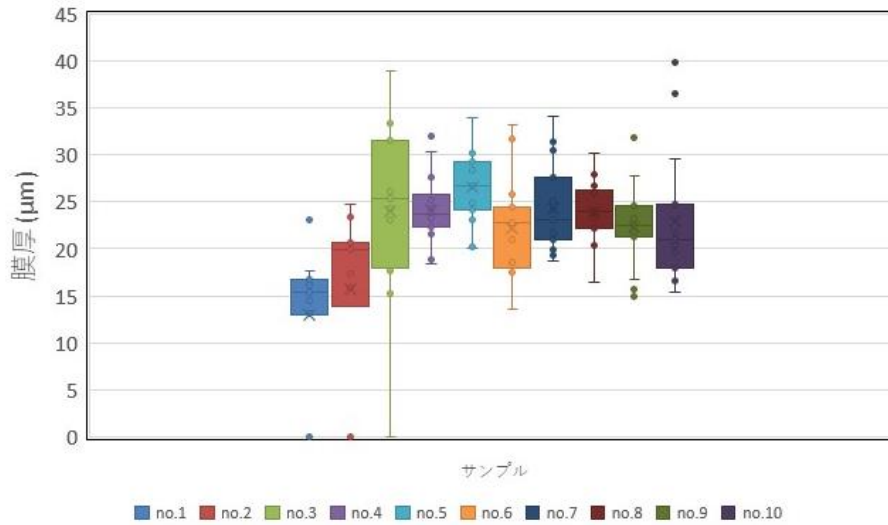


図5 サンプル毎の膜厚測定値

線上の測定値が近似していることから、測定時に何らかのゆがみが生じている可能性が示唆された（図6）。

e. 膜厚測定部位の確認

本開発機器においては、測定部位を確認すること

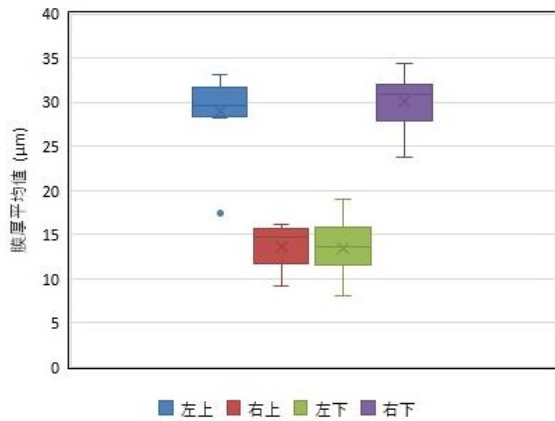


図6 部位別膜厚測定値

ができる仕様となっている。測定部位は仕様通りFFPEの4点となっていることが確認された（図7）。

4. 考 察

膜厚側の機器プロトタイプ1号機の精度は、大幅な改善の余地があるものであった。原因として考えられた点は、次の通りである。(1) 1度に10枚の連続測定を可能な仕様としたため、スライド移動部のカートリッジの剛性が測定誤差に影響を与えた可能性がある。(2) 容易にスライドガラスを着脱できるよう、スライドガラスを静置するカセットは浅く固定されていない仕様となっていたが、接触式センサーがスライドガラスに接触した際に、スライドガラスがZ軸方向に移動し、精度誤差に影響を与えた可能性がある。(3) ゼロ点の測定は、10枚測定の最初の1回となる仕様であったが、スライドガラス毎にゼロ点の測定が必要であった。

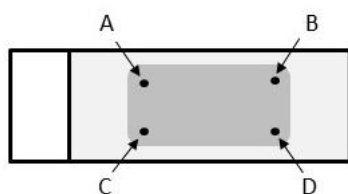


図7 測定部位の確認

以上の検討の結果、まずは、測定部の精度向上に開発の焦点を絞り、1枚のスライドガラス測定に限定したプロトタイプ2号機の開発を行うこととなった。

5. 結 語

病理標本の膜厚測定機器開発を行いプロトタイプ1号機についての動作確認、精度評価を行った。今後、測定部の改良を行ったプロトタイプ2号機の動作確認、精度評価を行う。

謝辞

本研究は、日本大学学術研究助成金（社会実装研究）の助成をうけて行った。

文 献

- 1) Masuda S, Suzuki R, Kitano Y, et al. Tissue Thickness Interferes With the Estimation of the Immunohistochemical Intensity: Introduction of a Control System for Managing Tissue Thickness. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2021; 29: 118-126.