病理組織診断用薄切片試料作製システムの開発 (第2報)*

—引き角制御機構を有する, 静電気を利用した薄切片試料作製装置—

小久保光典**

樋口俊郎***

石田尚志†

大友明宏††

Development of Automatic Thin Sectioning Microtome System for Light Microscopy (2nd Report)
— The Machine for Automatically Mounting Sections on the Object Glass by
Using Static Electricity and Pulling Angle Control System —

Mitsunori KOKUBO, Toshiro HIGUCHI, Hisashi ISHIDA and Akihiro OHTOMO

Preparing tissue sections for light microscopy is absolutely necessary in pathology. This process, however, is still mainly performed manually. Preparing many samples from a large number of specimens requires great skills. Additionally, it is very difficult to maintain predetermined accuracy of the procedure. To solve these problems, we propose a new prototype machine for automatic sample preparations. We developed the machine for automatically mounting sections on the object glass by using static electricity. The principle of this method is based on electrostatically charging the surface of a paraffin block. And, the section is gathered with the insulation tape while sectioning the specimen. After sectioning the block, the section remains adhered to the insulation tape by electrostatic force. Subsequently, the section is transferred to the object glass by being pressed on that by which water is dropped. Moreover, we developed 'Pulling Angle Control Mechanism' to section the specimen. It is a very effective method that the condition when we section the specimen can be freely changed. A new experimental machine has equipped this mechanism. In the use of these methods, it is possible to take out excellent sections on conventional object glass more than before.

Key words: sectioning, automatic microtome, light microscopy, electrostatical charging, polyimide tape, pulling angle control

1. 結 言

病理検査における組織診断は, パラフィンで包埋された検査対象である検体を薄切後に染色し, 顕微鏡で観察することによって行われる. このように, 病理組織検査では薄切片標本作製することが不可欠であり, 現在においても検体をパラフィン等で包埋した試料ブロックをミクロトームを用いて3~7 μ m程度の厚さに薄切し, 薄切片を一枚一枚スライドガラス上に乗せるという作業を, 臨床検査技師がほとんど手作業で行っている^{1), 2)}. このため病理組織診断の基となる顕微鏡標本の品質は, 薄切片作製作業を行う臨床検査技師の熟練・経験による手技に頼るところが大きい. また, 多数の検体から多数の薄切片試料を切り出さなければならず, 薄切片試料を安定した精度で供給することは非常に困難である^{3), 4)}.

そこで我々は, 静電気を利用して絶縁フィルムを使用したキャリアテープ上に薄切片を取り出した後, キャリアテープ上に静電気で密着している薄切片を, さらに静電気を用いてスライドガラスに転写する方式を提案し, 本システムの開発を行ってきた⁵⁾. その結果, キャリアテープ上に切り出した薄切片をスライドガラスに転写する際に, 薄切片とスライドガラス面の間に水分が無い場合, 薄切の際に生じたしわを, 問題にならない程度まで伸ばすことが困難であるということが判明した. そのため本報では, キャリアテープ上に静電気で密着している

薄切片をスライドガラスに転写する際に静電気力を用いず, 水分を滴下したスライドガラスにキャリアテープ上の薄切片を触れさせることにより薄切片をスライドガラスに転写する方式を採用した. また, 従来は固定であった引き角を任意に制御可能な「引き角制御方式」(2.4 引き角制御 参照)を考案し, 試作機に組み込んだ. 前述の方式を採用したことにより, ほとんどの検体について厚さ3~7 μ mでの薄切が可能となった. また, スライドガラス上に切り出した薄切片に熱を加え, しわを伸ばし, スライドガラスとの密着固定力を向上させる「伸展工程」を経た標本については, 臨床検査技師が作製したものと同等品質の標本であることが確認できた. 本システムを用いることで良好な精度の標本を安定的に作製することが可能となった.

2. 薄切片採取原理および試験装置

2.1 静電気を利用した薄切片試料のハンドリング

薄切片は非常に破損しやすいため, 薄切時および搬送の際に細心の注意を必要とする. 本工程を自動化する事が非常に困難なのはこの理由によるところが大きい. そこで我々はまず静電気を利用してポリイミド製の絶縁テープ(キャリアテープ)上に薄切片を取り出し, 次にキャリアテープ上の薄切片をスライドガラス上に乗せかえるという方式を考案した⁶⁾.

本システムの基本原理を図1に示す. まず, コロナ放電を利用した帯電装置により+電荷イオンを試料ブロック表面に吹き付け, 試料表面を+に帯電させる(図1 A). 次に試料表面をキャリアテープで覆い, ペルチエ素子を利用した冷却器により, 試料表面を冷却する(図1 B). その後, 帯電装置によりキャ

* 原稿受付 平成 15 年 1 月 23 日

** 正会員 東芝機械(株) (沼津市大岡 2068-3)

*** 正会員 東京大学大学院工学系研究科(東京都文京区本郷 7-3-1)

† 正会員 東芝機械(株)

†† 東芝機械(株)

リアテープ背面から一電荷イオンを吹き付け、キャリアテープ背面を一に帯電させる（図1 C）。この状態で試料を薄切すると、薄片はそれぞれの表面電荷の引力によりキャリアテープに引き寄せられ、キャリアテープ上に薄片を取り出すことができる（図1 D）。

従来は、この薄片を、同様に予め一に帯電させたスライドガラス上に搬送し、重ね合わせた上、帯電装置によりキャリアテープ背面から+電荷イオンを吹きかける方式を採用していた。このようにすると、+に帯電している薄片にはスライドガラス上の電荷により引力が、テープ背面の電荷により斥力が働き、薄片がテープ上からスライドガラス上に転写される。しかしこの従来方式では、スライドガラスに転写された薄片に熱を加えしわを伸ばしスライドガラスとの密着固定力を向上させる「伸展工程」を施しても薄切の際に薄片に生じたしわを十分に伸ばすことが困難である。加えて薄片とスライドガラスの密着固定強度も不十分であり、後工程の染色の際に薄片がスライドガラスから脱落してしまうという不具合が生じることがあった。そこで今回はキャリアテープ上に静電気力で密着している薄片をスライドガラスに転写する際に静電気力を用いず、スライドガラス上に水分を滴下（塗布）し（図1 E）、テープ上の薄片を触れさせる（図1 F）ことにより薄片をスライドガラスに転写する（図1 G）方式を採用した。最後に、スライドガラスに転写された薄片を、温度制御を行った伸展板（ホットプレート）に乗せ、しわを伸ばし、スライドガラスとの密着固定力を向上させる「伸展工程」を施す（図1 H）。

Fig.1 Principle and process of the system using static electricity

本原理を用いて薄片を採取する際に、薄片とキャリアテープ間に働く吸引力についての検討を以下に記す⁸⁾。

薄片とキャリアテープを図2に示すようなモデルとして考えると、面積 S の薄片に作用する力（吸引力） F は式（1）のように表すことができる。

V : Potential difference between both polar plates
 d : Distance between both polar plates
 ϵ : Permittivity of film

Fig.2 Modeling acting on the section by static electricity

$$E = \frac{CV^2}{2} = \frac{\epsilon SV^2}{2d}$$

$$F = \frac{\partial E}{\partial d} = -\frac{\epsilon SV^2}{2d^2} \quad (1)$$

ここで、 E ：両極板間に蓄積されたエネルギー、 C ：両極板間のつくる静電容量、 V ：両極板間の電位差、 ϵ ：キャリアテ

ープの誘電率、 d ：キャリアテープの厚さである。

吸引力 F は両極板の電位差 V の2乗に比例し、キャリアテープの厚さ d の2乗に反比例することがわかる。キャリアテープの誘電率 ϵ も大きな方がよいが1次の項なので影響は小さい。

一例として、キャリアテープの厚さを $25 \mu\text{m}$ 、比誘電率を 3.5、電位差を 1kV とし、直径 25mm の面積に生じる吸引力を計算すると約 12N となる。

2.2 薄片試料自動作製装置

試作した試験装置を図3、図4に示す。試料をナイフに向かって移動させるX軸の案内には非循環型（有限型）のクロスローラガイドを採用し、ボールねじを介して5相ステッピングモータ（分割数5000 pulse/rev.）で駆動している。試料ブロックを設定した薄切厚さに相当する量だけ送るZ軸にはボールによる転がり案内を用い、X軸と同様にボールねじを介して5相ステッピングモータ（分割数4000 pulse/rev.）で駆動している。また、今回の試作機の大きな特徴であるナイフの「引き角制御」を行うY軸は、非循環型（有限型）のクロスローラガイドを採用し、ボールねじを介して5相ステッピングモータ（分割数5000 pulse/rev.）で駆動している。表1に本装置の主要仕様を記す。被切削対象である試料は、現在の病理組織診断の標本作製作業との整合性を考慮して、検体固定処理用のカセットを装着可能とし、ナイフは一般的なミクローム用替え刃（ $8 \times 80 \times 0.25\text{mm}$ ）を2枚取り付けることができるようになっている。ナイフのすくい角は 45° に固定した。

薄片のハンドリングは、各対象に静電気力を用いるためのコロナ放電型帯電電極（2個）、キャリアテープ駆動機構、試料表面を冷却するペルチェ素子を利用した冷却器、スライドガラスに水を滴下する水分滴下機構、テープ上の薄片をスライドガラスに貼付するテープ押付け機構によって行う。なお帯電用高圧直流電源は $0 \sim \pm 20\text{kV}$ (0.5mA max.) 連続可変のものを使用した。

Fig.3 Automatic thin sectioning system

Fig. 4 View of the system using static electricity

Table 1 Specifications of the system

X-axis (Specimen sectioning feed)
Velocity range : 0–40 mm/s
Y-axis (Knife sectioning feed)
Velocity range : 0–40 mm/s
Motion range : 0–250 mm
Z-axis (Section thickness feed)
Setting range : 0–30 μm
Setting resolution : 0.1 μm

2.3 試料ブロック送り精度

設定した薄切片の厚さに相当する量だけ試料を送るZ軸のステップ送り（1 μm step）測定結果を図5に示す。測定には静電容量型の非接触微小変位計を用いた。Z軸の案内方式はボールによる転がり案内を用い、X軸と同様にボールねじを介して5相ステップモータ（分割数4000 pulse/rev.）で駆動している。図5から、設定した送り量1 μmで、ステップ状の送りができていることがわかる。

Fig. 5 Step feed of Z axis

2.4 引き角制御

従来の引き角固定方式を図6に示す。試料をナイフに向かって移動させて薄切を行うのだが、薄切能力を向上させる（刃先角度を鋭利にする）ため、通常図6に示す引き角（φ）を設定する。手動の薄切作業においては、マイクロトームの引き角を45°～60°に設定するのが一般的である。本システムに関する第1報で紹介した試作機においても、手動のマイクロトームと同様に引き角を固定した方式を採用した⁹⁾。しかし、従来の引き角固定方式では、一度設定した引き角を変更することが困難であるという問題点があった。さらにキャリアテープを用いて薄切片を採取する本システムにおいては、刃先と平行にキャリアテープを走行させること、および静電気力が作用する刃先近傍

までキャリアテープを近づけることが困難であるという問題が生じた。そこで今回試作した装置には図7に示すように、試料移動方向（X軸）と直行する方向（Y軸）に設定した速度でナイフを移動させる、「引き角制御方式」を採用した。本方式において、引き角φは式（2）のように表すことができる。

Fig. 6 Fixed pulling angle (Conventional style)

Fig. 7 Pulling angle control (Developed method)

$$\tan \phi = \frac{V_S}{V_K}$$

$$\phi = \tan^{-1} \left(\frac{V_S}{V_K} \right) \quad (2)$$

ここで、 V_S ：試料の移動速度、 V_K ：ナイフの移動速度である。表2に、代表的な引き角（φ=90°、60°、45°、30°）に相当する V_S と V_K の速度比を記す。

$V_K=0$ とすると φ=90°、 $V_K=0.577V_S$ の際に φ=60°、 $V_K=V_S$ の場合は φ=45°、 $V_K=1.732V_S$ の際に φ=30° となる。

Table 2 Pulling angle

	φ=90°	60°	45°	30°
V_S	1	1	1	1
V_K	0	0.58	1	1.73

2.5 薄切時に必要な切れ刃長さ

比較的多く用いられる図8に示す3種類の試料断面サイズについて、従来の引き角固定方式と今回用いた引き角制御方式で、それぞれ使用する切れ刃の長さを算出した。図8に示す3種類の試料は、薄切方向の違いによって図8 A～Eに示す5種類の試料セット方式が考えられる。

Fig. 8 Specimen set posture

本システムには最も一般的なマイクロトーム用ディスプレイブルナイフFETHER社製S35、A35相当品（刃先角 35°）を2枚取り付けることができるようになっている。S35、A35の切れ刃長さは最大80mmであり、その内両端の5mmを使用不適部とすると、1枚あたりの使用可能な切れ刃長は70mmとなる。そこで、図6に示す従来の引き角固定方式と図7に示す今回考案した

引き角制御方式における、設定した引き角と必要な切れ刃長さの関係について考察した。結果を図9および図10に示す。引き角については一般的に使用する $45^{\circ} \sim 60^{\circ}$ の範囲を示してある。従来の引き角固定方式の場合、図8に示す5種類の試料セット方式のうちA・B・Dは、使用する切れ刃長は同じであるため同一として記してある。各図ともにArea 3は1枚の切れ刃を3分割して使用可能（3箇所まで薄切できる）であることを示しており、同様にArea 2は2分割して使用可能、Area 1は薄切の際に使用する切れ刃長さが大きく、1箇所では薄切できないことを示している。

図9をみると、A・B・Dの場合2箇所、Cに関しては引き角を 60° に設定した場合のみ2箇所使用することができる。Cの場合の引き角 60° 以上およびEに関しては、1箇所での使用となる。薄切作業においては、粗削り工程で使用した替え刃のエリアと本削り工程で使用するエリアを分けることが一般的である。したがってA・B・DおよびCの引き角 60° に関しては1枚の替え刃で粗削りから本削りまでを行うことができるが、Cの引き角 60° 以上およびEに関しては2枚の替え刃が必要になるといえる。

Fig.9 Relation between length of blade used and pulling angle (Conventional style)

同様に図10から、今回考案した引き角制御方式を用いた場合は、1回の薄切時に使用する切れ刃長さ（分割面）がオーバーラップすること無しに使用できるエリア数はA, B, C, D, E全てに関して1箇所のみとなる。

この結果から薄切の際に使用する切れ刃の長さに関しては従来の方式が有利であることがわかる。しかし、ここで考慮しなければならないのが切れ刃の「寿命」である。切れ刃の寿命は一般的には「切れ刃が試料を切断した長さ（距離）（以後切断距離）」で決定する。図6に示す従来の引き角固定方式においては、試料を薄切する際に使用する切れ刃のすべての部分に関して切断距離は同じである。それに対し図7に示す今回考案した引き角制御方式を用いた場合は、使用する切れ刃長の両端に近いほど切断距離は短くなる。そのため本引き角制御方式に関しては、ある程度のオーバーラップが可能となる。また、本装置では切れ刃を移動させるY軸をステッピングモータで制御しているため、切れ刃の使用開始位置（薄切開始位置）をY軸座標として任意に設定できる。そこで、切断距離に応じて前記オーバーラップの設定を行っている。したがって前述の「寿命」を考慮して比較した場合、従来の引き角固定方式と今回考案した引き角制御方式はほぼ同等であるといえる。

Fig.10 Relation between length of blade used and pulling angle (Developed method)

3. 結果および考察

3.1 薄切片とキャリアテープ間に働く吸引力測定

薄切片とキャリアテープ間に作用する吸引力の測定方法を図11に示す。薄切対象となる直径 $\phi 25\text{mm}$ のパラフィンブロックを10秒間帯電させた後、キャリアテープを介して半対面から逆の電位に10秒間帯電させる。そしてキャリアテープとパラフィン間にすべりが生じるまで、パラフィンをAに示す方向に引き、その際に変化する荷重計の値を計測し（試験条件1）、後述の式（3）により吸引力に換算した。なおパラフィンブロックの案内にはA方向のみに移動可能なボール転がりタイプのリニアガイドを使用した。

Fig.11 Method of measuring adsorption force by static electricity

上記吸引力測定を行うにあたり、計測した荷重計の値を吸引力に換算する必要がある。そのため、まず導電性パラフィンとキャリアテープ間に静電気を作用させない状態でパラフィン上に乗せたキャリアテープ上に質量のわかっているおもりを乗せ、同様の試験を行った。結果を図12に示す。図12の縦軸はおもりの質量を吸着力としてN（ニュートン）で表している。横軸は荷重計の値を摩擦力とし、同様にN表示したものである。

図12から荷重計の値を x とし吸着力を y とすると、これらの関係は式（3）のように表すことができる。

$$y = 4.4x \quad (3)$$

図11に示す試験（試験条件1）結果を図13に記す。試験条件1より荷重計の値を計測した後に、校正式（3）により、薄切片とキャリアテープ間に生じる吸引力を算出した。試験は10回行っているが、荷重計の値を計測した後に次の試験を開始する前に、キャリアテープ帯電面を除電してから次の試験を開始している。パラフィン表面帯電用電極およびキャリアテープ帯電用電極への印加電圧は、それぞれ $+12\text{kV}$ 、 -12kV である。パラフィン表面電位測定値とキャリアテープ表面電位測定値の差を右縦軸に、その際の計算値と計測値を左縦軸に示す。

図13に示す計測値は、計測した表面電位から算出した計算値の約0.02%となった。このように吸着力が計算結果より非常に小さくなってしまふ原因について考察する。

図11に示す試験において、パラフィンが非導電性のためパラフィン表面を帯電させる作業を行っている。パラフィン表面の電荷は、パラフィン内部に存在するのではなく表面に「乗っている」だけであり、パラフィンとの密着力が弱いことが原因と考えられる。ここで薄切片を保持する際の力について考えると、図13に示した密着力計測値平均は0.007Nであり約0.7gの質量を保持することができる。一方、直径25mm、厚さ5 μ mの薄切片の質量は約0.002gであるため、計算上では薄切片を保持するには前記静電気の吸引力で十分といえる。

Fig.12 Value of the load indicator converted into the adsorption force

Fig.13 Adsorption force by static electricity

次に、薄切対象となる試料に直径 ϕ 25mmの導電性パラフィンブロック（パラフィンにカーボン粉を50wt%混ぜて導電性としたもの）を用いた試験を行った。前記導電性パラフィンブロックに30 $\times$ 30mmのキャリアテープを、前記パラフィンブロック表面を覆うようにセットする。そして半対面から（マイナス）の電位に10秒間帯電させた後、キャリアテープをAに示す方向に引き、その際に変化する荷重計の値（x）を計測し（図14、試験条件2）、図12に示したものと同様の方法で算出した校正式（4）により吸引力（y）に換算した。

$$y = 4.0x \quad (4)$$

今回も、荷重計の値を計測した後に次の試験を開始する前に、キャリアテープ帯電面を除電してから次の試験を開始し、10回の試験を行った。帯電用の電極への印加電圧は-6kVである。結果を図15に記す。キャリアテープ背面から帯電後に測定した表面電位を右縦軸に、その際の計算値と計測値を左縦軸に示す。図15の場合、計測値は、計測した表面電位から算出した計算値

に対し約68%となり、パラフィンブロックに導電性のものを用いた場合は、図2に示すモデルを裏付ける結果を得ることができた。その理由として、本試験に用いたパラフィンには導電性であるため、絶縁性のキャリアテープ背面を帯電した際に、パラフィン内を電荷が移動し、キャリアテープ背面の電荷の極性と逆の電荷がパラフィン表面に集まっている状態となり、図11に示す試験における電荷がパラフィン表面に「乗っている」状態とは異なることが挙げられる。

Fig.14 Method of measuring adsorption force by static electricity

Fig.15 Adsorption force by static electricity

3.2 薄切片採取試験

ここでは、数多く薄切試験を行ってきた検体のうち、消化管（大腸）および骨（腰椎骨）を薄切した例を紹介する（図16(a), (b)）。ナイフにはマイクローム用替え刃（S35, A35 相当品）を使用し、試料ブロック表面帯電用の電極1の印加電圧を12kV、キャリアテープ背面帯電用の電極2の印加電圧を-12kV、ナイフのすくい角45°（逃げ角10°）、引き角60°および薄切速度20mm/sの条件で薄切を行い、テープ上に取り出した薄切片をスライドガラスに転写した。スライドガラスは一般的な顕微鏡用（76 $\times$ 26 $\times$ 1.0mm）を使用している。

比較的技能の高い臨床検査技師が同様の作業を行った場合、連続切片作製に関しては比較的薄切し易い検体についても9割以上の成功を納めることは困難である。さらに今回の検体の一つである骨組織等は硬度が高いため、薄切しにくく、薄切片を連続的に採取することは非常に困難であるが、本システムでは薄切厚さ3 μ mまでの薄切片を連続的に採取することができた。それぞれ30枚ずつの薄切試験を行った結果、上記検体に関しては約9割以上の確率で、良好な薄切片標本作製することができた。また標本の品質については、本システムによって製作した薄切片試料を染色後、病理診断を専門としている方に顕微鏡観察していただき、人間が製作したものと同等の、診断可能なものであることを確認している。

薄切片の切り出しからスライドガラスへの貼付までのサイクルタイムは40秒/枚である。

Fig.16 Specimen embedded in paraffin

3.3 染色標本評価

スライドガラス上に貼付され、約40℃で数時間伸展工程を施した厚さ3 μ mの薄切片標本にHE（ヘマトキシリン-エオジン）染色を施した結果を図17（a），（b）に示す。図17（a）は消化管（大腸），図17（b）は骨（腰椎骨）である。

病理組織診断においては、現在までにさまざまな染色方法が開発されており、多くの染色法が用いられている。今回標本評価のために用いたHE染色は、組織病理学の発展とともに一世紀あまりにわたって活用される最も基本的な染色法であり、多くの病理診断が本法のみで可能とされているほど応用範囲が広い。このHE染色は生体組織の細胞核などを青藍色に、細胞質、赤血球などを赤色に染め分ける^{9),10)}。本装置にて作製した組織標本は、破れ、しわ等の発生に着目し、人間が作製した顕微鏡標本と比較すると、同程度の顕微鏡観察可能なものとなっている。また比較的薄切し難い検体に関して、厚さのムラや連続切片作製成功率に着目すると、人間よりも良好な結果を得ることができた。

Fig.17 Section mounted on object glass and photomicrograph after staining

4. 結 論

病理組織診断に用いられる薄切片には、厚さのばらつきが小さく、形状が良好なことが要求される。また、形状を損なうことなくスライドガラス上にのせる技術も重要であり、本薄切片標本の作製作業には熟練を要する。本システムを使用することで、前述の臨床検査技師の困難な作業を軽減し、熟練者でなくとも品質の安定した薄切片試料を容易に作製することができる。

本システムには次に示すような特徴があり、試験から得られた結果と併せて以下に記す。

- 試料表面、キャリアテープをそれぞれ帯電させる帯電装置にはコロナ放電型帯電電極2個を、帯電用高圧直流電源には0 $\sim$ $\pm$ 20kV（0.5mA max.）の連続可変型を用いた。
- キャリアテープ上に取り出した薄切片を、水を滴下したスライドガラスに触れさせることにより、薄切片をスライドガラス上に転写することが可能である。
- 今回考案した引き角制御方式を用いることで、薄切片試料の安定的な作製に成功した。また、本引き角制御方式は、検体の硬度等に応じて容易に引き角を変更することに加え、切れ刃の位置変更も容易に行うことができる。
- スライドガラス上に貼付された薄切片標本を連続的に製作するサイクルタイムは約40秒である。
- 自動でスライドガラス上に取り出された薄切片試料を、約40℃で数時間伸展後、染色を行った結果、人間が作製したものと同等品質の、鏡検可能な組織観察用顕微鏡標本を作製することができた。

今後はしわ、破れ等の不具合発生頻度を抑え、良好な品質の薄切片を安定して作製できるように、試験を継続する予定である。また、キャリアテープに関しては消耗品であるため、ポリイミドフィルム（厚さ25 μ m、絶縁破壊強度276kV/mm）の他に、比較的安価なPETフィルムについての検討も行っており、現在までの試験結果ではポリイミドフィルムと同様に本システムに使用できる目処がたっている。

本システムは生体試料を扱う病理・臨床検査分野以外に植物の組織検査、鉱物の組織検査、食品等の成分検査等数多くの分野に応用可能であると考えられる。

謝 辞

今回の試験を行うにあたり、HE染色法の指示、標本の評価をしていただいた東京女子医科大学 病理学第一講座 教授 小林慎雄様、刈田瑞穂様、村松文章様に感謝いたします。なお本装置の開発の一部は（財）機械システム振興協会、平成12年度 新機械システム普及促進事業の助成による。

参 考 文 献

- 鈴木裕，小坂光代：病理標本の薄切，検査と技術，**6**，2，（1978）153.
- 平山章：新しい病理組織標本の作り方，臨床検査，**19**，6，（1975）108(682).
- 滝野寿，長屋清三：薄切法，検査と技術，**26**，7，（1998）103.
- 末吉徳芳，服部進：薄切の物理とマイクロームの使い方，Medical Technology，**27**，2，（1999）143.
- 福田祥慎，樋口俊郎，工藤謙一，小久保光典，南部 寛：組織観察用薄切片作製システムの開発 第3報，1997年度精密工学会春季大会学術講演会講演論文集，（1997）1293.
- 小久保光典，樋口俊郎，工藤謙一，福田祥慎，南部 寛：病理組織診断用 薄切片試料作製システムの開発，第36回日本エム・イー学会大会，（1997）358.
- 小久保光典：病理検査用切片作製装置，第38回組織細胞化学学会総会・学術集会 講演予稿集WSIII-4，（1997）62.
- 小久保光典，樋口俊郎，工藤謙一，福田祥慎，大友明宏，南都寛，石田尚志：病理組織診断用薄切片試料作製システムの開発（第1報）—静電気を利用した薄切片試料作製装置—，精密工学会誌，**68**，12，（2002）1605.
- 斉藤誠 他：染色法のすべて，月刊MEDICAL TECHNOLOGY別冊，医歯薬出版株式会社，（1988）2.
- 田所衛，石川喜美男，小沼利光：実践病理組織細胞学カラー図鑑，HBJ出版局，（1990）266.