

シンポジウム14

病理細胞1 「ゲノム検査を目的とした組織の取り扱いー固定、薄切や結果に基づく考察および多施設調査報告ー」

ゲノム検査を目的とした組織の取り扱い

ー固定、薄切や結果に基づく考察および多施設調査報告ー

◎徳満 貴子¹⁾

宮崎大学医学部附属病院¹⁾

①施設概要と組織・細胞検体数

宮崎大学医学部附属病院は、総病床数632床、「特定機能病院」、「がん診療連携拠点病院」として指定されている。病理診断科・病理部は2020年にISO15189の認定を取得し、2021年度の年間件数は、病理組織6846件、細胞診が4231件である。

②固定条件について

固定液は、生検材料および手術材料すべて10%中性緩衝ホルマリンを使用し、院内で使用するホルマリンは2017年よりすべて病理部が管理している。生検材料は生検採取日翌日に受付、検体処理を行っている。手術材料については、遺伝子検査が考えられる検体は、固定開始時間～終了時間を依頼書に記載、病理部で追加固定が必要な場合は固定終了時間記載をしている。生検検体、手術検体において遺伝子検査を実施する可能性があるものは、休日前の検査や手術は避けてもらうようお願いしている。

③遺伝子検査について

全領域で遺伝子検査を行っているが、外部委託検査所に依頼しており未染スライド作製を行っている。昨年度の実績は、MSI 検査が最も多く、オンコマイン DxTarget Test マルチ研究用46 遺伝子検査、肺癌 ALK 遺伝子、EGFR 変異解析、ROS1 融合遺伝子の順に多い。がんゲノム医療で実施しているパネル遺伝子検査は FoundationOne CDx がんゲノムプロファイル25件、NCC オンコパネル8件である。

④不適正に対する対応

未染スライドの依頼は病理医が腫瘍量不足と判断した場合、診療科に連絡し追加の検体採取を促している。遺伝子検査項目の薄切は項目によってマーキングの有無やHE 標本が必要か否かなどあるため技師は項目の標本作製条件を確認している。薄切では、検体ごとに水槽の交換、ミクロトームおよび周辺の清掃、グローブの着用などコンタミを防いでいる。また、硬組織での脱灰は遺伝子検査を行う可能性がある場合は EDTA を用いるなどしている。

シンポジウム14

病理細胞1 「ゲノム検査を目的とした組織の取り扱いー固定、薄切や結果に基づく考察および多施設調査報告ー」

ゲノム検査を目的とした組織の取り扱い ～固定・薄切における当院の実状～

◎金子 洋平¹⁾、竹林 英幸¹⁾、竹平 祥紀¹⁾
奥園 萌¹⁾、小丸 検造¹⁾

日本赤十字社 長崎原爆病院¹⁾

①組織概要と組織・細胞検体数

長崎原爆病院は長崎県県南地区の315床の急性期病院で地域がん診療連携拠点病院として指定されている。2021年度の病理件数は組織診が3193件、細胞診が5221件である。

②FFPE 標本を用いたゲノム検査について

ゲノム検査は全て外部委託しており、消化器および呼吸器検体が多くを占めている。呼吸器検体については、オンコマイン Dx Target Test マルチ CDx (以下オンコマイン) を第一選択としており、同時に PD-L1 も提出している。2021年度のオンコマイン検査総数は59件であり、RNA の判定不能例が4件 (6.8%) であった。

③固定、薄切の実状

組織検体の全てを10%中性緩衝ホルマリンで固定している。固定は室温で概ね12～48時間実施しており、呼吸器生検材料においては24時間以内としている。固定時間は病理システムで管理しており、組織診依頼箋へ固定開始時間の記載を臨床にお願いしている。手術材料は臓器によっては臨床医による入割や注入固定がなされてタッパー等の専用容器で病理へ搬送される。必要時には病理でも入割や注入固定を追加で実施している。手術材料用ホルマリンは頻繁に交換するようにしている。脱灰が必要な場合は EDTA 中性脱灰液を使用している。週末検体は自動固定包埋装置の1層目にホルマリンを入れたプログラムで稼働しているが、固定開始3時間未満の検体は、庫内温度が45℃を超え RNase が活性化する可能性がある為、検査の日当直者へ翌朝にカセットをホルマリン瓶から低濃度アルコールへ入れ替える作業を依頼している。ゲノム用未染標本の薄切は手袋、マスクを着用し、検体毎に替刃・水槽の交換、清掃を実施し、コンタミ防止に努めている。

④不適正に対する対応策について

オンコマインの不適正を減らす対策として、肺癌術中時の遺伝子検査用検体のサンプリングや腫瘍細胞量が少ない場合は指定された枚数以上の未染標本を薄切する等を実施している。

シンポジウム14

病理細胞1 「ゲノム検査を目的とした組織の取り扱いー固定、薄切や結果に基づく考察および多施設調査報告ー」

当院における病理検体を用いた遺伝子検査の運用と現状

◎遠峰 由希恵¹⁾、大久保 文彦¹⁾、山口 知彦¹⁾、中附 加奈子¹⁾
仲 正喜¹⁾、木村 理恵¹⁾、野上 美和子¹⁾

国立大学法人九州大学病院¹⁾

【現状】 当院において、病理検体を用いた遺伝子検査は依頼項目数、総出検数共に増加傾向にある。2021年1月1日～12月31日の1年間に、出検された遺伝子検査の総数は1037件（月平均86件）であり、依頼項目数は29項目であった。その内訳はコンパニオン診断756件（月平均63件）、がん遺伝子パネル検査は281件（月平均23件）であった。コンパニオン診断では、マイクロサテライト不安定性検査（固形がん）が最も出検数が多く206件であり、がん遺伝子パネル検査ではFoundationOne CDx（F1CDx）188件が最も多かった。

【運用】 当院では、一部のコンパニオン診断を除き遺伝子検査は全て外部委託し、病院情報システムと連携させた病理診断システムにて、組織診検査、細胞診検査と共に情報管理をしている。臨床より依頼された遺伝子検査は全例、臨床検査技師が基本的な検体情報（採取日からの期間、脱灰の有無、最終診断報告書の内容等）を確認し、病理医が委託検査会社より提示されている各検査項目の検体提出要件を検体が満たしているかどうか HE 染色標本で適否判定と薄切枚数の指示を行っている。この運用では、遺伝子検査の作業効率化・標準化を目的として、当院独自で作成した「遺伝子検査チェックシート」3種類（コンパニオン診断用、肺がん関連遺伝子検査用、がん遺伝子パネル検査用）を病理部員間での情報管理のために活用している。

【結果】 2021年に出検されたがん遺伝子パネル検査のうち、最も多かった F1CDx 188件の検査成功率は、94.6%（178/188件）であった。検査中止となった10件は切除検体3件、生検検体7件であった。検査中止理由は、DNA 収量不足が最も多く30%（3/10件）であった。

【おわりに】 今回は、当院における遺伝子検査の運用と現状に加えて、病理医による遺伝子検査提出のための検体適否判定の結果とその取り扱い、腫瘍細胞核含有率や提出用未染標本の作製枚数等の実際についても報告したい。

【謝辞】 ご指導いただきました小田義直先生、山元英崇先生に感謝申し上げます。

ゲノム検査を目的とした組織の取り扱いー多施設調査報告

◎角谷 優子¹⁾、武井 美和²⁾、荒木 由華²⁾、野上 美和子³⁾

福岡大学病院¹⁾、社会医療法人 雪の聖母会 聖マリア病院²⁾、国立大学法人 九州大学病院³⁾

2019年6月より、複数の遺伝子変異を一括して検出できる「がん遺伝子パネル検査 (FoundationOne CDx がんゲノムプロファイルと OncoGuide NCC オンコパネルシステム)」や肺癌のコンパニオン診断対象遺伝子変異を調べる「肺癌マルチ CDx 遺伝子解析」などが保険適応となり、また分子標的治療薬や免疫チェックポイント阻害剤など相次ぐ登場により、遺伝子検査のための高品質な組織検体を確保することは病理検査部門の極めて重要な役割となっている。

しかし、組織採取から固定、切り出しや標本作製に至る工程は、臨床医、病理医、検査技師などが携わる複数の段階を踏む作業であり、画一された管理が容易ではなく、施設間差も推測される。

今回我々は九州の施設を対象に、『ゲノム診療用病理組織取り扱い規定』に基づいた、ゲノム検査を考慮した組織検体の取り扱いに関する実態調査を行った。調査の項目は、プレアナリシス段階である固定前プロセスより「検体採取からホルマリン固定までの時間：冷虚血時間」、固定プロセスからは「ホルマリン固定液種・固定時間・週末や大型連休などの対応」、固定後プロセスより「硬組織を含む検体をゲノム診断に供する可能性がある場合の対応・FFPE ブロックの保管状況」、アナリシス段階からは「ゲノム検査に使用する FFPE ブロックは作製後何年以内のものを対象としているのか」とし、調査を行った。また番外編として「ゲノムおよびコンパニオン診断など質の高い腫瘍組織の確保の為に呼吸器領域における TBLB 時の ROSE や on site の実施状況」、「コンパニオン診断を含めて検査の受付、検体提出、結果報告などを担っている該当部署、その管理方法」を調査項目に加え、さらに「ゲノム検査を目的とした組織取り扱いとして自施設で工夫されていることや疑問点」を自由形式の記入とすることで様々な情報を収集した。

本セッションでは調査結果を基に、『ゲノム診療用病理組織取り扱い規定』に基づいた取扱いが九州で浸透し実施されているか把握するとともに、各々の施設での工夫点や疑問点を収集し、情報共有の場とし議論を行いたい。