

# 目 次

|              |   |
|--------------|---|
| 合本版発刊にあたっての序 | 3 |
|--------------|---|

## ゲノム研究用病理組織検体取扱い規程 9

|                          |    |
|--------------------------|----|
| ゲノム研究用病理組織検体取扱い規程策定にあたって | 10 |
| 規程策定に寄与した研究者等            | 12 |
| 実証解析研究に従事した研究者等          | 13 |

## ◆ 第 1 部 研究用病理組織検体の適切な採取部位 14

|    |                       |    |
|----|-----------------------|----|
|    | はじめに                  | 14 |
|    | 内容について                | 15 |
| 総論 | ① 採取の原則               | 16 |
|    | ② 採取のために知っておくべきこと     | 16 |
|    | ③ 採取のルールを各施設で決定しておく   | 17 |
|    | ④ 採取部位の選択 — 腫瘍の同定     | 17 |
|    | ⑤ 採取部位の選択 — 割の入れ方について | 17 |
|    | ⑥ 採取部位の決定             | 18 |
|    | ⑦ 組織採取後の取扱い           | 20 |
|    | ⑧ サンプルングの量について        | 20 |
| 各論 | 胃癌・大腸癌                | 21 |
|    | 肺癌                    | 25 |
|    | 乳癌                    | 27 |
|    | 肝臓癌                   | 30 |
|    | 脾癌                    | 33 |
|    | 子宮体癌                  | 40 |
|    | 卵巣腫瘍                  | 43 |
|    | 軟部腫瘍                  | 45 |

## ◆ 第 2 部 凍結組織検体の適切な採取・保管・移送方法 46

|      |    |
|------|----|
| 採取対象 | 47 |
| 採取者  | 48 |
| 採取時間 | 49 |
| 採取量  | 50 |

|           |    |
|-----------|----|
| 組織の処理     | 51 |
| 急速凍結      | 53 |
| 長期保管      | 54 |
| 凍結組織切片作製  | 57 |
| 研究使用      | 58 |
| 移送        | 59 |
| バイオセーフティー | 60 |
| 試料の廃棄     | 61 |

## 【第2部の根拠となる実証解析データ】

|                                                           |    |
|-----------------------------------------------------------|----|
| [実証データ①] 急速凍結までの時間・保管温度のゲノムDNAの品質に対する影響                   | 62 |
| [実証データ②] 急速凍結までの時間・保管温度のRNAの品質に対する影響                      | 65 |
| [実証データ③] 抽出手技のRNAの品質に対する影響                                | 67 |
| [実証データ④] 核酸庇護剤のゲノムDNAの品質に対する影響                            | 68 |
| [実証データ⑤] 核酸庇護剤のRNAの品質に対する影響                               | 70 |
| [実証データ⑥] 凍結方法のゲノムDNAの品質に対する影響                             | 71 |
| [実証データ⑦] 凍結方法のRNAの品質に対する影響                                | 72 |
| [実証データ⑧] 長期保管温度のゲノムDNAの品質に対する影響                           | 73 |
| [実証データ⑨] 長期保管温度のRNAの品質に対する影響                              | 75 |
| [実証データ⑩] 超低温槽（-80℃）における保管のタンパク質の品質に対する影響                  | 76 |
| [実証データ⑪] OCT包埋標本より抽出したRNAの品質                              | 77 |
| [実証データ⑫] at a glanceの病変細胞（癌細胞）含有率評価の意義                    | 78 |
| [実証データ⑬] 検体輸送方法のゲノムDNAの品質に対する影響                           | 79 |
| [実証データ⑭] 検体輸送方法のRNAの品質に対する影響                              | 81 |
| [参考データ①] 本規程にEならびにAで示した手技を用いて採取・保管した組織検体におけるゲノム解析例        | 82 |
| [参考データ②] 本規程にEならびにAで示した手技を用いて採取・保管した組織検体におけるエピゲノム解析例      | 83 |
| [参考データ③] 本規程にEならびにAで示した手技を用いて採取・保管した組織検体におけるトランスクリプトーム解析例 | 85 |
| [参考データ④] 本規程にEならびにAで示した手技を用いて採取・保管した組織検体におけるプロテオーム解析例     | 86 |
| [参考データ⑤] 本規程にEならびにAで示した手技を用いて採取・保管した組織検体における多層オミックス解析例    | 88 |

## ◆ 第3部 ホルマリン固定パラフィン包埋標本の適切な作製・保管方法 90

|          |    |
|----------|----|
| 摘出から固定まで | 91 |
|----------|----|

|           |    |
|-----------|----|
| 固定液の濃度と種類 | 92 |
| 固定時間      | 93 |
| 未染標本の取扱い  | 94 |
| 脱灰        | 95 |

### 【第3部の根拠となる実証解析データ】

|                                                                                                |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| [実証データ①] 固定までの時間・固定時間・ホルマリンの種類と濃度のDNAの品質に対する影響                                                 | 96  |
| [実証データ②] 固定時間・ホルマリンの種類と濃度のDNAの品質に対する影響                                                         | 97  |
| [実証データ③] 固定時間・ホルマリンの種類と濃度のRNAの品質に対する影響                                                         | 98  |
| [実証データ④] ホルマリンを含まない固定液の組織像への影響                                                                 | 99  |
| [実証データ⑤] ホルマリンを含まない固定液のゲノムDNAの品質への影響                                                           | 101 |
| [実証データ⑥] ホルマリンを含まない固定液の免疫組織化学への影響                                                              | 102 |
| [実証データ⑦] ホルマリンを含まない固定液のRNAの品質への影響                                                              | 103 |
| [実証データ⑧] 過固定のゲノムDNAの品質への影響                                                                     | 104 |
| [実証データ⑨] 過固定の免疫組織化学への影響                                                                        | 106 |
| [実証データ⑩] 未染標本の保存状態のゲノムDNAの品質等に対する影響                                                            | 107 |
| [実証データ⑪] 未染標本の保存状態の免疫組織化学への影響                                                                  | 109 |
| [実証データ⑫] 脱灰方法のゲノムDNAの品質に対する影響                                                                  | 111 |
| [参考データ①] 実際のホルマリン固定パラフィン包埋標本（生検検体・手術検体）から抽出できるゲノムDNAの量と質                                       | 112 |
| [参考データ②] ホルマリン固定パラフィン包埋標本から得たマイクロダイセクション検体から実際に抽出されたゲノムDNAの量と質                                 | 115 |
| [参考データ③] 本規程にEならびにAで示した手技を用いて作製したホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）標本から抽出した微量のゲノムDNAを用いたゲノム解析（クリニカルシーケンシング）例 | 117 |
| [参考データ④] 本規程にEならびにAで示した手技を用いて作製したホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）標本から抽出した微量のゲノムDNAを用いたエピゲノム解析例             | 119 |

## ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程 121

|                          |     |
|--------------------------|-----|
| ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程策定にあたって | 122 |
| 初版作成担当                   | 124 |
| 協力・連携研究班等                | 124 |
| 実証解析担当機関および協力機関等         | 125 |
| 実証解析実施協力企業               | 125 |
| 調査協力企業                   | 125 |

◆ 第1部 診療における病理組織・細胞検体の現状..... 126

◆ 第2部 ホルマリン固定パラフィン包埋組織・細胞検体の適切な取扱い..... 129

|                                          |     |
|------------------------------------------|-----|
| ブリアナリシス段階.....                           | 130 |
| a) 固定前プロセス.....                          | 130 |
| b) 固定プロセス.....                           | 131 |
| c) 固定後プロセス.....                          | 133 |
| アナリシス段階.....                             | 134 |
| a) FFPE ブロックの選択と薄切およびHE 染色標本へのマーキング..... | 134 |
| b) FFPE 検体からの核酸抽出.....                   | 136 |

【検体取扱いに関する実証データ】

|                                                                       |     |
|-----------------------------------------------------------------------|-----|
| [実証データ①] 日常診療下で作製されたFFPEブロックの遺伝子パネル検査適用性と核酸品質の施設間差.....               | 138 |
| [実証データ②] 日常診療下で作製されたFFPEブロックから得られたDNAの品質.....                         | 140 |
| [実証データ③] 日常診療下で作製されたFFPEブロックから得られたDNAの収量.....                         | 141 |
| [実証データ④] ホルマリン固定時間延長が検体品質およびNGS用ライブラリー調製に与える影響.....                   | 142 |
| [実証データ⑤] ホルマリン固定時間延長による塩基置換アーティファクト生成への影響.....                        | 144 |
| [実証データ⑥] ホルマリン固定時間延長による総リード数への影響.....                                 | 146 |
| [実証データ⑦] ホルマリン固定時間がマイクロアレイ測定へ与える影響.....                               | 148 |
| [実証データ⑧] FFPEブロック保管期間がDNA品質に与える影響.....                                | 149 |
| [実証データ⑨] FFPEブロック保管期間がDNA品質に与える影響.....                                | 150 |
| [実証データ⑩] FFPEブロック保管期間がRNA品質（総リード数）に与える影響.....                         | 151 |
| [実証データ⑪] FFPEブロック保管期間がDNAおよびRNA品質（総リード数）に与える影響.....                   | 152 |
| [実証データ⑫] FFPEブロックの保管期間延長による塩基置換アーティファクトの生成とUNG処理によるアーティファクトの除去効果..... | 154 |

|         |     |
|---------|-----|
| 文献..... | 156 |
|---------|-----|

|                                               |     |
|-----------------------------------------------|-----|
| 補遺 1 病理部門におけるFFPE検体の作製と分子診断・ゲノム診断での使用の流れ..... | 158 |
|-----------------------------------------------|-----|

|                                    |     |
|------------------------------------|-----|
| 補遺 2 ゲノム診断利用のためのHE染色標本のマーキング例..... | 159 |
|------------------------------------|-----|