

# バイオマーカー検査で用いる検体

検体種	検体説明
組織検体	<p><b>【ホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)組織検体】</b></p> <p>薄切した組織切片はスライドガラスにマウントさせて提出する。各バイオマーカー検査において規定されている必要枚数の未染色標本作製し、そのうちの1枚をHE染色し腫瘍細胞の存在を確認することが推奨される。特に微小な生検検体では、病理診断の後に再薄切した場合には、腫瘍部分あるいは組織そのものがなくなってしまうことがあるので注意を要する。病理診断時にバイオマーカー検査の実施が予定されている場合は、あらかじめ病理診断用の未染色標本作製時にバイオマーカー検査用標本を余分に作製しておくことも有用である。</p> <p>検体中の腫瘍細胞の存在状態は様々であるため、病理診断報告書に腫瘍量や腫瘍含有割合を記録しておくことが推奨される。またマクロダイセクションを実施した場合は、その旨と実施後の腫瘍量や腫瘍含有割合を記録することが推奨される。また検査センターへ外注する場合、検査に供した検体のHE染色標本(マクロダイセクションを行う際に、腫瘍部のマーキングを行ったHE染色標本)は、可能な限り検査後にも再確認できるようにしておくことが望ましい。ホルマリン固定には、10%中性緩衝ホルマリン液が標準的に用いられており、固定時間は6~48時間が推奨されている。[1,2]</p> <p><b>※各種生検材料の取扱い [1]</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 病変の局在・大きさや、施設で実施可能な手技に応じた、適当な検体採取方法を選択する必要があり、肝・骨生検や超音波内視鏡下穿刺吸引法(EUS-FNA)、外科的生検を考慮する場合は、他科との連携が重要である。気管支内視鏡検査では特に検体が微小であり、様々な工夫が必要である。</li> <li>✓ 末梢肺結節に対する腫瘍生検では、仮想気管支鏡画像やナビゲーションの併用は病変への確実な到達を容易にし、気管支腔内超音波断層法(EBUS)にガイドシース法(EBUS-GS法)もしくは細径気管支鏡(EBUS-UT法)を併用することで再現性が高まり、数多くの検体の採取が可能になる。ただし同一部位で生検を重ねると、後半になるにつれて出血によるアーチファクトが発生する可能性を考慮する必要があり、採取部位を少しずつ変更するなどの工夫をする。一度の生検で大きな検体を採取するために、可能であれば大型の生検鉗子やガイドシースキットを用いる。関与気管支が腫瘍辺縁にしか到達しないような病変では、末梢での経気道的針穿刺後に鉗子生検を行うことでより腫瘍細胞割合の高い検体が採取される。</li> <li>✓ 近年国内承認された経気道的生検方法のクライオバイオプシーでは、大きな検体が採取可能で、採取組織から得られたDNA・RNA量は鉗子生検の約3倍であった。</li> <li>✓ 超音波ガイド下経気管支針生検(EBUS-TBNA)では、19~25G穿刺針が使用可能で、22G針でNGS解析が十分に可能であったとする報告がある。腫瘍細胞含有率の低下を回避するためには、エラストグラフィを含めた超音波所見による穿刺部位の決定、slow pull法や迅速細胞診(ROSE法)の併用が有効である。</li> <li>✓ 胸水貯留例では、胸水検体やセルブロック検体が、バイオマーカー検査に提出されていることが多いが、腫瘍細胞割合は低く、注意が必要である。胸腔鏡下に壁側胸膜を生検することで質の高い検体が多く採取可能で、局所麻酔下に安全に施行できるので、可能であれば考慮してもよい。</li> </ul>
	<p><b>【新鮮凍結組織検体】</b></p> <p>最も高品質のDNAやRNAを抽出可能であるが、同時にDNaseやRNaseの酵素活性も保持されており、検体の取扱いを迅速に行わなければ、核酸品質を急速に低下させるおそれがあるため、注意を要する。手術室などで割を入れ採取する場合も多いが、腫瘍細胞含有量を顕微鏡的に確認する必要がある。周囲の炎症が強い腫瘍、粘液産生が高度な腫瘍、中心部線維化巣が広範な腫瘍では、腫瘍細胞が採取されず偽陰性になることがある。腫瘍細胞を確認する手段としては以下の方法がある：①凍結腫瘍組織を薄切し、HE標本作製し、その標本で腫瘍細胞の存在および占有割合を確認する。②採取時に割を入れ、その片割れを凍結組織とし、残りの割面でFFPE組織標本作製し確認する。[3]</p>
細胞検体	<p><b>【体腔液細胞検体】</b></p> <p>胸水などの体腔液細胞検体は、腫瘍細胞含有割合が低い場合があり、細胞診標本上での確認が必須である。後述のセルブロック検体およびそのHE標本の作製も考慮されたい。</p>
	<p><b>【擦過細胞および穿刺吸引細胞検体】</b></p> <p>当該検体では適切に腫瘍から採取されれば腫瘍細胞に富んだ検体を採取することができることが報告されている。これら検体については塗抹標本(スミア標本)からの核酸抽出が可能であるが、腫瘍細胞含有割合の確認が必須である。</p>
	<p><b>【その他細胞検体】</b></p> <p>気管支洗浄液(BAL)などの検体では、正常細胞が混入することが多く、腫瘍細胞に富んだ検体を採取することが比較的困難な検体であり、通常感度のバイオマーカー検査法での使用はあまり推奨されない。</p>
	<p><b>【セルブロック検体(FFPE細胞検体)】</b></p> <p>胸水などの細胞検体からのセルブロックの検査使用の重要性が増している。セルブロックでの保管により、FFPE組織検体同様、CDxや鑑別診断などを目的としたIHC法やFISH法による解析が、繰り返し可能となる。また腫瘍細胞の含有割合の確認も容易となる。セルブロック作製法は複数知られており、遠心分離細胞収集法と細胞固定法に大別される。本邦ではそれぞれ4~5種程度の作製法が用いられていることがこれまでの調査研究で明らかとなっている[4]。前者では遠心管法が、後者ではアルギン酸ナトリウム法が、比較的多くの施設で用いられている[4]。</p>
血漿検体	<p>血漿検体は、組織検体と異なり、腫瘍細胞の割合やDNAの質、量に基づいて評価できないため、血液採取、血漿の分離、血漿検体の保管に至るプレアナリシスの段階において適切に扱われた検体を使用するべきである。特に採血後の検体を長時間室温で放置すると、血球成分の崩壊やDNAの分解の原因につながる。また、血漿成分を分離する際に血球成分が混入すると、有核細胞由来のゲノムDNAが原因で、偽陰性となる可能性があることは注意しなければならない。通常のEDTA-2Kの採血管を使用した場合、血漿の分離は、採血後8時間以内安定である。血漿分離後の血漿検体は、15~30℃で1日間、2~8℃で3日間、-25~-15℃で12カ月、そして-70℃以下の場合には12カ月保管可能である。血漿CGP検査では、医療機器認証を受けた指定のセルフリーDNA抽出用採血管を基本使用する。</p>
<p>1 日本肺癌学会「肺癌患者における次世代シーケンサーを用いた遺伝子パネル検査の手引き(第2.0版)」 Yatabe Y, Sunami K, Goto K et al., Multiplex gene-panel testing for lung cancer patients. Pathol Int. 2020 Dec;70(12):921-931.</p> <p>2 日本病理学会「ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程」 Hatanaka Y, Kuwata T, Morii E et al., The Japanese Society of Pathology Practical Guidelines on the handling of pathological tissue samples for cancer genomic medicine. Pathol Int. 2021 Nov;71(11):725-740..</p> <p>3 日本病理学会「ゲノム研究用病理組織検体取扱い規程」 Kanai Y, Nishihara H, Miyagi Y et al., The Japanese Society of Pathology Guidelines on the handling of pathological tissue samples for genomic research: Standard operating procedures based on empirical analyses. Pathol Int. 2018 Feb;68(2):63-90.</p> <p>4 日本臨床細胞学会「がんゲノム診療における細胞検体の取扱い指針(初版)」</p> <p>5 ASCO/CAP ジョイントレビュー Merker JD, Oxnard GR, Compton C et al., Circulating Tumor DNA Analysis in Patients With Cancer: American Society of Clinical Oncology and College of American Pathologists Joint Review. J Clin Oncol. 2018 Jun 1;36(16):1631-1641.</p>	