

がんゲノム検査を見据えた病理組織検体処理 ～当院での取り組み～

◎和田 恭典¹⁾、田戸 宏樹¹⁾、森田 かおり¹⁾、完山 尚裕¹⁾、前野 健一郎¹⁾、内堀 隆敏¹⁾、嶋田 俊秀¹⁾
日本赤十字社 大阪赤十字病院¹⁾

【はじめに】

遺伝子を用いたコンパニオン診断や包括ゲノム検査などに良好な病理組織検体を提供するため、ゲノム研究用・診療用病理組織検体取り扱い規定（日本病理学会）が定められている。規定では、ホルマリン固定の条件や方法が遺伝子品質に与える影響が詳細に記載されており、その重要性が強調されている。しかし、ホルマリン固定パラフィン包埋（以下、FFPE）ブロックの作製工程は多く、かつ大部分が手作業を占めるため、手技や運用の具体的な方法は施設ごとに異なるのが実情である。そこで本シンポジウムでは、当院における取り組み（特に手術検体の取り扱い）などを紹介したい。

【当院での取り組み】

1. 固定前プロセス：当院では固定開始は臨床診療科が担当しており、特に臨床医の協力が必要不可欠となる。臨床医向けに教育を行い、継続した運用を行っている。
2. 固定プロセス①：ホルマリンは、物理的・科学的修飾により、遺伝子品質に大きな影響を与える。影響を最小限にとどめるため、10%中性緩衝ホルマリンの使用が推奨されているが、緩衝液の濃度にも注意したい。規定の実証データは、低緩衝ホルマリンの使用は遺伝子品質が低下すると示している。また、ホルマリン固定の反応機序は化学反応であるため、繰り返しの使用による固定成分の消費や血液などによる希釈により、固定作用の減弱が懸念される。ホルマリン槽などで固定を行っている場合は、適切な頻度での交換が望まれる。
3. 固定プロセス②：規定の実証データは、FFPEブロックからの遺伝子品質は手術材料より生検材料の方が優れていると示している。これは固定組織の大きさや性状などの要因のため、材料内部での固定不良による核酸分解のためとされる。事実、大きな手術材料を固定開始翌日に切り出すと、組織内部は固定不十分であることは日常的に経験される。一方で、遺伝子収量は手術材料の方が大きく優れていることも示している。これらより、手術材料の良好な固定が遺伝子品質・収量の向上につながると考え、手術材料の固定の改善を行った。基本的な固定方法は浸漬固定であるが、灌流や注入、入割などを適宜行い、固定不良が起り易い膵臓、肝臓、乳腺、腎臓、膀胱、前立腺などでも良好な固定を得ている。
4. 固定プロセス③：固定時間の過不足も遺伝子品質に影響を与える。当院では、生検材料と手術材料で分けて運用することにより、固定時間の過不足を防いでいる。
5. ゲノム検査結果：2020年6月から2021年12月までに提出した包括ゲノム検査80例のうち、遺伝子品質のデータが得られた29例について比較した。遺伝子品質の指標（ $\Delta\Delta Cq$ 値：2以下が望ましい）は生検材料で-1.23～0.64、手術材料で-0.34～1.21であった。包括ゲノム検査全体の成功率は生検で96%、手術材料で100%であった。

【まとめ】

組織検体の取り扱いはFFPEブロックからの遺伝子品質を決定しうる。規定ではホルマリン固定の推奨条件が定められているが、どのように日常業務に取り入れるかが重要である。当院では生検・手術材料ともに、十分な遺伝子品質が得られていると考える。

大阪赤十字病院 病理診断科部 連絡先：06-6774-5111（内線 2760）