

小児固形腫瘍検体提出の手引き

(小児固形腫瘍観察研究、JCCG 固形腫瘍分科会臨床試験)

第 2.2 版

(2021 年 11 月 13 日)

日本小児がん研究グループ（JCCG）

固形腫瘍分科会



【検体提出前の準備】

- ① 小児固体腫瘍観察研究の研究計画書（最新版）が施設倫理委員会で承認されればデータセンターに連絡する（施設登録）。データセンターから JCCG 検体保存センター事務局にも伝達される。

データセンター：国立成育医療研究センター小児がんセンター 小児がんデータ管理科
小児がん登録室
〒157-8535 東京都世田谷区大蔵 2-10-1
国立成育医療研究センター研究所バイオバンク棟 2F
FAX : 03-5494-7490 TEL : 03-5494-7120 内線 : 4281, 4283
E-mail : nch-cca@ncchd.go.jp

- ② 上記の施設登録が完了すれば、JCCG 検体保存センター事務局から BBJ 専用凍結検体提出用容器（指定容器 A）および提出用指定袋 B（大・小）の 3 点が施設に送付される。

凍結組織検体（検査用）



指定容器 A (1.3mL Type)

指定袋 B (70 mm×50 mm・140 mm×100 mm)

- ③ （成育から連絡を受けた）SRL から施設に SRL 指定凍結検体提出用滅菌ポリスピッツ、末梢血提出用 SRL 指定 EDTA-2Na 採血管、末梢血用 BBJ 専用伝票（匿名化専用依頼書 C；施設名・診療科名は印刷済）の 3 点が納付される。SRL と検体提出手順について確認しておくこと。なお、使用期限（最大 2 年）の切れた採血管は廃棄すること。



SRL 指定凍結検体
提出用滅菌ポリスピッツ

SRL 指定採血管
(EDTA-2Na 5mL)



診療科名

(印刷されていない、あるいは科名が異なる場合には記入・修正)

赤枠内のみ記入
(末梢血提出用)

病院コード No.		病院名		メカーニカルコード		T- No.	投棄日	SRL依頼書			
				97910 65		月	日	J C C G			
※匿名化専用依頼書		男・女		性別		年齢	月	項目数	検体数	負荷量	受領証
氏名		()		年齢		月	日	2	2	kg	捺印欄
科名		()		年齢		月	日	2	2	kg	捺印欄
Dr - 1 D		()		年齢		月	日	2	2	kg	捺印欄
※ 被告査の氏名は「匿名化専用依頼書」で報告致します。 ※ 匿名査の氏名は必ず記入下さい。(カナ、英数字)		()		年齢		月	日	2	2	kg	捺印欄
先生方へのお願い		検査依頼欄には、氏名を記入しないようご注意下さい。		年齢		月	日	2	2	kg	捺印欄
コード No.		検査項目		保存・材料・検体量		容器		受取料		備考欄	
<input checked="" type="checkbox"/> C6841 DNA抽出 (N)		C6841 DNA抽出 (N)		冷蔵 血液 5.0ml (PN5)		(PN5) EDTA - 2Na入り 純水		● DNA抽出		● 指紋捺印	
<input checked="" type="checkbox"/> A5386 血漿分離		A5386 血漿分離		冷蔵 血液 5.0ml (PN5)		(PN5) EDTA - 2Na入り 純水		● 血漿抽出		● 指紋捺印	
(補足事項)											
(容器)											
このラベルは受付Noとして 弊社で使用致します。											
882611						882611					

末梢血用 BBJ 専用伝票 (匿名化専用依頼書 C)

- ④ 提出用容器が不足しそうになれば早めに BBJ 連携事務局にメールで必要数を連絡する。施設に配布されるまで約 2 週間必要なので、余裕をもって連絡すること。

検体提出用容器の手配についての連絡先 (検体提出法の問い合わせは後記へ)

JCCG 検体保存センター事務局 事務担当

E-mail : bbj-office@ncchd.go.jp

* 連絡方法は、メールのみとさせていただきます (電話等は不可) .

* データセンターとは別の部署ですので、ご注意ください。

【検体提出の一般的手順（BBJでの保存用；ゲノムの網羅的な解析を含む遺伝子解析についての同意が得られている場合）】

- ・ 提出するのは腫瘍検体と末梢血.
- ・ 腫瘍は壊死部を避けて組織を 4mm 角程度（研究グループ提出用の場合はグループの指示にしたがう）にスライスし、清潔なろ紙等で水分を除去する。エッペンドルフチューブや所定の容器に入れたのち、迅速に液体窒素またはドライアイス・イソペンタン等で凍結し、搬送までは-80℃で保存すること。
- ・ **注意 1：上記は一般的手順である。腫瘍毎に送付先などに差異があることがあるので、p.6【腫瘍および検体ごとの処理法、提出先】あるいは臨床試験の研究計画書等もあわせて必ず確認すること。**
- ・ **注意 2：検体提出の前にあらかじめオンラインで検体送付票を入力すること。**

検体送付先：国立成育医療研究センター

JCCG 病理診断委員会事務局（中央診断事務局） 義岡 孝子（よしおか たかこ）
国立成育医療研究センター病理診断部（病院 3F）
(凍結検体は「本人手渡し」と朱記すること)
〒157-8535 世田谷区大蔵 2-10-1
TEL : 03-5494-7120 (内線 7499) FAX : 03-5727-2879
E-mail : office_path@ncchd.go.jp

検体の処理や提出法についての問い合わせ先

国立成育医療研究センター JCCG 病理診断委員会事務局（中央診断事務局）
TEL : 03-5494-7120 (内線 7499) FAX : 03-5727-2879
E-mail : office_path@ncchd.go.jp

1) 凍結腫瘍検体（脳腫瘍、および JNBSG 参加施設が神経芽腫検体を提出する場合を除く）

- ・ JNBSG 不参加施設が神経芽腫検体を提出する場合には本項の手順にしたがう。
- ・ JNBSG 参加施設については「腫瘍および検体ごとの処理法、提出先」の「1. 神経芽腫（JNBSG 参加施設の中央診断）」参照
- ・ **脳腫瘍検体については、「5. 脳腫瘍」参照**
 - * 発泡スチロール製のボックスにドライアイスとともに凍結検体をいれる。凍結検体のチューブが割れないように保護すること。
 - * 検体に中央診断用検体送付票（= 登録コード通知票）を同封して送付する。
 - * 宅配便の伝票に「中央病理診断検体」「本人手渡し」と記載する。
 - * 各施設は冷凍便の平日午前中到着指定で発送する。土日、祝日、休日は検体を受け取ることができないので、施設にて-80℃保存し、休日明けに平日の午前中到着指定で発

送する。

採取可能な検体の量に応じて以下のように処理し、必ず一次登録コードを記入した提出用指定袋Bに入れる。

複数の臓器がある場合（例えば原発巣と転移巣）は袋を分け、区別できるように袋に一次登録コードと採取部位を記載すること。

- ① はじめの2個（4mm角）はBBJ専用凍結検体提出用容器（指定容器A）1本に2個入れる（中央診断用）。指定容器Aには一次登録コードを記載したり、シール等を貼らないこと。
- ② 次の2~4個はSRL指定凍結検体提出用滅菌ポリスピット1本に2~4個入れる（BBJ保存DNA抽出用）。滅菌ポリスピットのラベルには一次登録コードを記載したり、シール等を貼らないこと。採取日と一次登録コードは、滅菌ポリスピットを入れた任意の袋には必ず記載すること（成育からSRLに提出する際に、専用伝票に記入する必要があるため）。
- ③ さらにそれ以上検体が採取できるようであればBBJ専用凍結検体提出用容器（指定容器A）1本に1個ずつ入れる（凍結組織のままBBJで保存される）。指定容器Aには一次登録コードを記載したり、シール等を貼らないこと。
できるだけ多数提出することが望ましいが最大6個までとする。

* 中央診断実施後、BBJに提出できる量の検体が残存している場合には、成育で伝票を記入してSRLにDNA抽出を依頼するので、施設からの凍結検体提出時にはSRL用の伝票は不要。中央診断のための小児固形腫瘍観察研究「中央診断用検体送付票」のみでよい。

* 凍結組織がOCT包埋組織しかない場合も受け入れる。この時も提出用指定袋Bに一次登録コードを記載し、パラフィルム等で密封したOCT包埋組織を入れること。組織が破損しないように保護すること。

検体送付先：国立成育医療研究センター（注意：JNBSG神経芽腫は埼玉県立がんセンター）

JCCG病理診断委員会事務局（中央診断事務局） 義岡 孝子（よしおか たかこ）

国立成育医療研究センター病理診断部（病院3F）

（凍結検体は「本人手渡し」と朱記すること）

〒157-8535 世田谷区大蔵2-10-1

TEL：03-5494-7120（内線7499） FAX：03-5727-2879

E-mail：office_path@ncchd.go.jp

2) 凍結検体以外の腫瘍検体

容器の指定はない。検体処理法や送付先は腫瘍、検体の種類によって異なることがあるため、p.6「腫瘍および検体ごとの提出先」あるいは臨床試験の研究計画書等を参照すること。

（1）中央病理診断用検体

自施設の病理医と相談の上、以下の①～⑤を用意し、極力速やかに送付する。プレパラート

は、凍結検体（冷凍便）とは別に送付する。

- ① HE 染色プレパラート： 切り出したすべての部位より HE 標本各 1 枚
 - ② 未染色プレパラート： 10 枚（代表的な部位 1ヶ所、免疫染色用コ-ティング“スライド”）
 - * 横紋筋肉腫及びその他の軟部腫瘍が疑われる場合は合計 15 枚（できれば 20 枚）
 - ③ 施設病理診断依頼書と報告書のコピー（患者名、ID、生年月日などの個人情報を消去）
 - ④ 切り出し図（存在する場合：施設病理医へ確認）
- * 採取された腫瘍量などの事情により、上記の枚数が用意できない場合は、中央病理診断用検体送付先（国立成育医療研究センター）に必ず確認すること。
検体の取り違え等のエラーを防ぐため、それぞれのプレパラートには一次登録コードと患者イニシャルを鉛筆にて記載する（患者名や施設の患者 ID などの個人情報は記載しないこと）。
- * 中央病理診断に提出されたプレパラートについては、原則として返却しない（保存と研究利用の同意が得られている場合には余剰検体として保存、得られていなければ廃棄）。

(2) 新鮮生腫瘍組織検体

BBJ の保存対象ではない。神経芽腫では JNBSG 中央診断の対象となる。また、JPLT 参加施設では肝腫瘍が研究用の検体送付対象となる。

これらについては p.6 「腫瘍および検体ごとの処理法、提出先」参照のこと。

3) 正常末梢血

BBJ において血漿分離、および DNA 抽出のために使用する。できれば治療開始前、困難であれば化学療法終了後の白血球回復時に採取する（白血球減少時の採取は避ける）。通常診療の採血時に末梢血用 SRL 専用 EDTA-2Na 採血管に 5mL（乳児は 2～5mL）採取し、末梢血用 BBJ 専用伝票（匿名化専用依頼書 C の 3, 4 枚目）とともに SRL に提出する。

- * 末梢血用 BBJ 専用伝票には、施設名、一次登録コード、採取日のみを記載する（氏名やカルテ番号等の記載欄があるが記入しないこと）。採血管のラベルにも採取日と一次登録コードを必ず記載する。
- * 腫瘍検体の採取量が少ない場合でも、末梢血由来の血漿および DNA が BBJ で保存されるため、「バイオバンクへの試料提供」の同意が取得されている場合には、中央診断用凍結組織検体の送付時に必ず採血して正常末梢血検体を提出すること。中央診断用検体を複数回提出する場合には、末梢血もその都度提出する。
- * BBJ 提出用の SRL 専用 EDTA-2Na 採血管は総本数が BBJ によって管理されています。BBJ 提出以外の目的で使用するのはご遠慮ください。また使用期限の切れた採血管を使用しないこと。

4) 検体送付費用

自施設負担とする。

【提出手順（ゲノムの網羅的な解析を含む遺伝子解析についての同意が得られていない場合）】

- ① 提出するのは中央診断用腫瘍検体のみ。中央病理診断用検体は上記 2)-(1)参照。
神経芽腫については、下記「腫瘍および検体ごとの処理法、提出先」にしたがう。
- ② 中央診断用以外の提出腫瘍検体の種類、処理法、容器については腫瘍・研究グループの指定にしたがう（疾患委員会の規定や研究プロトコールによっては、下記の記載以外の検体の提出が求められることがある。研究グループ所属施設や当該プロトコール参加施設はご注意ください）。

【腫瘍および検体ごとの処理法、提出先】

中央病理診断用検体についてはいずれの腫瘍も上記 2)-(1)参照。

以下に示す腫瘍ごとの検体処理は、特に記載がない限り、これ以外の検体についてである。

1. 神経芽腫（JNBSG 参加施設の中央診断）

JNBSG 参加施設が提出する神経芽腫中央分子生物学的診断用検体は以下の 4 つである。なお、BBJへの試料提供の同意がある場合には、この他に SRL に末梢血の提出が必要である（「検体提出の一般的手順の 3) 正常末梢血」参照）。

- 1) 凍結組織検体
- 2) 新鮮生組織検体
- 3) 患者の末梢血（中央診断用：BBJ 用の末梢血検体とは別であることに注意）
- 4) 患者の骨髄血

送付先：すべて埼玉県立がんセンター

上條 岳彦（かみじょう たけひこ）

埼玉県立がんセンター臨床腫瘍研究所

小児がん検体センター

住所：〒362-0806 埼玉県北足立郡伊奈町大字小室 818

電話：048-722-1111（内線：7583, 7504） FAX：048-722-1739

E-mail：g.sccnb-kentai@saitama-pho.jp

（検査担当）：春田雅之、柳沢 智子、山下 明代、小田川 裕子

各施設は冷蔵便、冷凍便ともに平日午前中到着指定での発送を原則とする。土日、祝日、休日検体受領は、事前問い合わせの上で検討する。週末は原則として施設にて各検体に適切な温度下（下記参照）で保存し、休日明けに平日の午前中到着指定で発送する。遠隔地からの送付は金曜到着に間に合わない場合があるため、搬送日数は発送時に必ず確認すること。

a. 凍結組織

壊死部を避け、腫瘍の充実部分を採取する。腫瘍検体を 10mm 角にスライスし、液体窒素またはエタノール・ドライアイスで迅速凍結する。中央診断のためには 10mm 角を 2~3 個の送付が望ましいが、腫瘍塊が小さくても送付すること。BBJへの試料提供の同意がある場合には、さらに BBJ 保存分が必要である（「検体提出の一般的手順；1) 凍結腫瘍検体②, ③」の手順参照）。腫瘍検体は SRL 指定凍結検体提出用滅菌ポリスピッツ（BBJへの試料提供の同意がある場合；検体量に余裕があれば指定容器 A にも）あるいは通常のポリプロピレンチューブ（BBJへの同意がなく、中央診断のみを希望する場合）に入れ、この上に「一次登録コード」を記載すること。腫瘍はドライアイス搬送までは-80℃に保存する。（ドライアイスは数日間保つよう十分に入れ、特に夏季は搬送日数 1 日あたり最低 2kg 以上入れること。搬送は発泡スチロールボックス等の保冷性の高い容器を用いる。）組織はアルミホイルやガーゼなどで包まないこと。

なお、複数の臓器（例えば原発巣と転移巣）から採取した場合には、両者が区別できるように採取部位も記載すること。なおクロネコ便であれば中継所が検査施設の近くにある。

中央分子診断後に BBJ のバンキングの基準を満たす検体の余剰があれば、バイオバンク提出用として埼玉県立がんセンターから国立成育医療研究センターに凍結検体のままで転送され、SRL で DNA が抽出される。一方、提出検体が少なく BBJへの提供が困難な場合がある。この場合には、バイオバンク保存用検体を用いて優先的に中央診断を行い、残余は研究グループ用として保存する。

b. 新鮮生組織検体

FISH 法、qPCR 法による遺伝子増幅の検査（神経芽種の MYCN 増幅など）や、DNA ploidy, 11qLOH の検査を行うために必須である。最低 10mm 角 1 個の新鮮組織を無菌環境下で組織片にして、滅菌したプラスチックチューブ（指定なし）に入れ、密封後「一次登録コード」を記入し、十分な保冷剤を入れて 4℃にて保存する。送付もクール宅急便（冷蔵 4℃）で行う。0℃以下のフリーザーで保管した保冷剤は検体を凍結させる恐れがあるため使用せず、保管時・発送時ともに必ず冷蔵した保冷剤を使用のこと。 チューブにはメディウム等は入れないこと。また、組織はアルミホイルやガーゼなどで包まないこと。

c. 正常末梢血

DNA ploidy 等の検査を行う場合の対照として必須である。末梢血（EDTA-2Na；ヘパリンは不可）を 3~5mL 採取し（指定容器なし）、「一次登録コード」を付記し、新鮮生組織検体と共に十分な保冷剤を入れて送付する（4℃）。0℃以下のフリーザーで保管した保冷剤は検体を凍結させる恐れがあるため使用せず、保管時・発送時ともに必ず冷蔵した保冷剤を使用のこと。 バイオバンクへの試料提供の同意がある場合には、これとは別に SRL 専用 EDTA-2Na 採血管に採血して SRL に直接提出する（「検体提出の一般的手順；3) 正常末梢血の手順参照」）。

d. 骨髄血

末梢血と同様、EDTA-2Na 採血する（ヘパリンは不可：qPCR 法の結果に影響を与えるため）。

新鮮生組織検体と共に、十分な保冷剤を入れて4℃で送付する。分離後の骨髓有核細胞を送付する場合は予め連絡のこと。なおプロトコールに採取法の規定がある場合には、本項の記載に開わらずそれに準じること。

2. 横紋筋肉腫

a. 凍結組織

腫瘍は壊死部を避けて組織を5mm角程度にスライスし、エッペンドルフチューブや所定の容器に入れたのち、迅速に液体窒素またはドライアイスで凍結し、搬送までは-80℃で保存すること。中央診断のためには5mm角を3~5個の送付が望ましいが、腫瘍塊が少なくても送付すること。BBJへの試料提供の同意がある場合には、さらにBBJ保存分が必要である（「検体提出の一般的手順；1) 凍結腫瘍検体②、③」の手順参照）。

検体送付先：国立成育医療研究センター

JCCG病理診断委員会事務局（中央診断事務局） 義岡 孝子（よしおか たかこ）
国立成育医療研究センター病理診断部（病院3F）
(凍結検体は「本人手渡し」と朱記すること)
〒157-8535 世田谷区大蔵2-10-1
TEL：03-5494-7120（内線7499） FAX：03-5727-2879
E-mail：office_path@ncchd.go.jp

横紋筋肉腫では凍結組織よりRT-PCRにてPAX3-FOXO1、PAX7-FOXO1融合遺伝子の解析

* 横紋筋肉腫の新鮮組織については、次回の固体腫瘍観察研究の改訂の際に研究計画書や同意書を整備した上で、検体送付対象となる予定である。それまでは送付対象とならない。

3. 肝腫瘍

a. 凍結検体

検体送付先：国立成育医療研究センター

JCCG病理診断委員会事務局（中央診断事務局） 義岡 孝子（よしおか たかこ）
国立成育医療研究センター病理診断部（病院3F）
(凍結検体は「本人手渡し」と朱記すること)
〒157-8535 世田谷区大蔵2-10-1

TEL : 03-5494-7120 (内線 7499) FAX : 03-5727-2879
E-mail : office_path@ncchd.go.jp

b. 新鮮生腫瘍組織検体 (JPLT 参加施設のみ)

最低 0.5g の新鮮組織を無菌環境下で組織片にして、滅菌したプラスチックチューブ（指定なし）に入れ、密封後「一次登録コード」をチューブに記載し、速やかに冷蔵（4°C）で送付する。チューブにはメディウム等は入れないこと。

検体送付先：広島大学

JPLT 事務局 広島大学自然科学研究支援開発センター
〒734-8551
広島市南区霞 1-2-3 霞総合研究棟 1F
TEL:082-257-5416, FAX:082-257-5416
E-mail:jplt@hiroshima-u.ac.jp

4. 腎腫瘍

JWiTS の遺伝子研究は、本手引き「1)凍結腫瘍検体」に記載されている①, ②, ③ (4 頁) に従って処理された凍結検体を用いて実施する。解析遺伝子は腎芽腫では WT1 である。遺伝子異常の解析には、DNA による遺伝子の構造異常やメチル化異常だけでなく、遺伝子の発現異常が重要である。上記の②の検体は DNA として保存されるので、DNA が抽出されていない凍結検体③が必要となる。したがって腎腫瘍については、できるだけ①～③の 3 つの検体を送付することが望ましい。

検体送付先：国立成育医療研究センター

JCCG 病理診断委員会事務局（中央診断事務局） 義岡 孝子（よしおか たかこ）
国立成育医療研究センター病理診断部（病院 3 F）
(凍結検体は「本人手渡し」と朱記すること)
〒157-8535 世田谷区大蔵 2-10-1
TEL : 03-5494-7120 (内線 7499) FAX : 03-5727-2879
E-mail : office_path@ncchd.go.jp

5. 脳腫瘍

通常の病理診断については一般的手順(p.4, 2)の(1))に従う。

またプレパラートと一緒に、下記の①と②を送付すること。

- ① 画像診断報告書のコピー
- ② 診断に用いた画像のうちの主要画像数枚（各画像をパワーポイントに貼付してください。ただし

DICOM 規格の画像ディスクはサイズが大きく、閲覧することができない場合が多いため、不可)
下記の分子診断の項目には凍結検体が必須であり、検体の取り扱いは以下のとおりとする。指定容器については本手引きの p.1 を参照のこと。また脳腫瘍の診断には発生部位（例：前頭葉、間脳、側脳室、脳幹、小脳など）が極めて重要であり、分子解析のアプローチも部位によって異なることがあるので、年齢・性別とともに必ず部位を記載すること。

- ① 検体（3 – 5 mm 角）を BBJ 専用凍結検体提出用容器（指定容器 A）1 本に 1 個ずつ入れ、可能な限り 2 本作製する（中央診断用）。指定容器 A には一次登録コードを記載したり、シール等を貼らないこと。
- ② 次の 2~4 個は SRL 指定凍結検体提出用滅菌ポリスピット 1 本に 2~4 個入れる（BBJ 保存 DNA 抽出用）。滅菌ポリスピットのラベルには一次登録コードを記載したり、シール等を貼らないこと。採取日と一次登録コードは、滅菌ポリスピットを入れた任意の袋には必ず記載すること（成育から SRL に提出する際に、専用伝票に記入する必要があるため）。
- ③ さらにそれ以上検体が採取できるようであれば BBJ 専用凍結検体提出用容器（指定容器 A）1 本に 1 個ずつ入れる（凍結組織のまま BBJ で保存される）。指定容器 A には一次登録コードを記載したり、シール等を貼らないこと。
できるだけ多数提出することが望ましいが最大 6 個までとする。

- 注意 1) 凍結検体を入れる専用容器内に RNA later などの安定化溶液を入れないこと。
- 注意 2) 専用容器以外のチューブで送付された場合、成育あるいは検査担当施設で入れ替えなければならない。検体の質を保つために、凍結後の検体の分割・入れ替え等は行わない方がよいので、検体送付には専用容器を使用すること。
- 注意 3) 凍結組織が OCT 包埋組織のみの場合も受け入れる。この時も提出用指定袋 B に一次登録コードを記載し、パラフィルム等で密封した OCT 包埋組織を入れること。割れないように保護すること。
- 注意 4) 採取検体量が少なく、容器 1 本分あるいは OCT 包埋組織 1 個のみの提出の場合は、下記の分子検査を優先する。

それぞれの腫瘍型ごとに原則として以下のような分子検査を行うが、MLPA や次世代シークエンス（網羅的な脳腫瘍関連遺伝子標的エクソンシークエンス、RNA シークエンス）、メチル化アレイ解析などを含む追加解析を症例に応じて行うことがある。追加解析は下記に記載した病理診断名に当てはまらない症例や、遺伝子解析が有用なもの（GCT における mTOR, kit, RAS 変異 SEGA における TSC1, TSC2 変異, pineoblastoma における DICER1 変異, ATRT の SMARCB1 の検索など）や下記の検索で有意な異常が認められなかったもの、診断が困難な例を優先的に対象とする。核酸抽出、解析は原則として凍結検体を対象に行うが病理診断のための必要性や依頼に応じて FFPE 検体からも行うことがある。

(1) 髄芽腫

髓芽腫の国際コンセンサス 4 型分類(凍結検体を用い Nano-string 法)
TP53, beta-catenin などの変異解析 (凍結検体を用いた DNA sequencing)
MYC 増幅および Loss of chromosome 6 (未染標本を用いた FISH 法)
Beta-catenin などの免疫染色

(2) グリオーマ

IDH1, IDH2, BRAF, H3F3A, HIST1H3B, TERT promoter, FGFR1 hot spot の変異検索 (パイロシークエンス法)
低悪性度グリオーマに対しては KIAA-BRAF 融合遺伝子の検索 (RT-PCR 法)
必要に応じて 1p19qcodeleiton の検索 (MLPA)、CDKN2A deletion の検索 (MLPA)、
FGFR-ITD, BCOR-ITD の検索 (RT-PCR 法)

(3) 胎児性腫瘍

19q13.42 増幅 (未染標本を用いた FISH 法, 群馬大学)

(4) 上衣腫

4-1. テント上上衣腫
c11orf95-RELA 融合遺伝子凍結検体を用いた RT-PCR 法)
4-2. 後頭蓋窩上衣腫
H3K27me3 の免疫染色、CRIP1, LBX2, DRD4 の CpG サイトの解析(パイロシークエンス法)による PFA, PFB 分類

(5) 胚細胞腫瘍

c-kit exon11,17 変異 (凍結検体を用いた Sanger sequencing)

(6) AT/RT

INI1/SMARCB1 免疫染色

* 暫定診断報告書および最終報告書（統合診断書）作成について

- 1) 遺伝子解析用凍結検体が提出された症例は、免疫組織化学の結果が出た時点で、暫定診断報告書を作成して、事務局に送る。報告書は原則として診断名のみで、必要に応じてコメントを加える。
- 2) 遺伝子解析の結果が出たのちに統合診断を行い、最終報告書を作成するが、診断の内容については以下のように 2 種類に分けるものとする。
臨床試験に参加している症例および臨床試験の対象となっている腫瘍型の症例、依頼施設で確定診断を出すことが困難な症例、および中央診断が依頼施設の診断と異なる症例（組織型や grade）については、従来通りの診断名、所見、検索結果、およびコメント、すべてを記載した診断書を作成するが、上記以外の症例は、原則として報告書の内容を簡略化し、診断名とコメントのみの報告書とする。

- *「小児固体腫瘍観察研究実施計画書」に基づいて登録された症例の検体はすべて、国立成育医療研究センター中央病理診断事務局宛に送付する。
- *上記の凍結検体を用いた分子病理学的解析は、群馬大学、国立成育医療研究センター、国立がん研究センター、大阪医療センター、順天堂大学で行われるが、検体は国立成育医療研究センター中央病理診断事務局からこれらの施設に送付される。
- *解析結果は国立成育医療研究センター中央病理診断事務局から依頼元施設へ送付される（中央病理診断結果とは時期がずれことがあります）。

検体送付先：国立成育医療研究センター

JCCG 病理診断委員会事務局（中央診断事務局） 義岡 孝子（よしおか たかこ）
 国立成育医療研究センター病理診断部（病院 3F）
 （凍結検体は「本人手渡し」と朱記すること）
 〒157-8535 世田谷区大蔵 2-10-1
 TEL : 03-5494-7120（内線 7499） FAX : 03-5727-2879
 E-mail : office_path@ncchd.go.jp

6. ユーアング肉腫ファミリー腫瘍

ユーアング肉腫ファミリー腫瘍では通常の中央病理診断に加えて、キメラ遺伝子の解析が診断において重要である。したがって、JESS では成育医療センターに集められた凍結組織から RNA を抽出し、RT-PCR 法にて ESFT に特異的なキメラ遺伝子である、EWS/FLI1, EWS/ERG, EWS/ETV1, EWS/E1AF, EWS/FEV, FUS/ERG, FUS/FEV 等の解析を行う。また、これらのキメラ遺伝子に関する FISH 法による検討も行う。キメラ遺伝子解析結果は中央病理診断委員会へ通知され、中央病理診断に加味される。そのため以下の検体の提出が必要になる。

a. 中央病理診断用検体

「p4. 検体提出の一般的手順 2) 凍結検体以外の腫瘍検体 (1) 中央病理診断用検体」に従う。

- ① HE 染色プレパラート：切り出したすべての部位より HE 標本各 1 枚。
 - ② 未染色プレパラート：10 枚（代表的な部位 1 カ所、免疫染色用コーティングスライドを使用すること）免疫染色用
- * 1 それぞれのプレパラートには一次登録コードと患者イニシャルを鉛筆にて記載する。（患者名や、施設の患者 ID などの個人情報は記載しない。）
 - * 2 施設病理診断依頼書と報告書のコピー（個人情報を消去したもの）と病理の切り出し図も添付すること。

b. 凍結腫瘍検体 (RT-PCR 用)

「p.3 検体提出の一般的手順 1) 凍結腫瘍検体」に従う。

・容器が 2 種類あるので注意が必要

- ① BBJ 専用凍結検体提出用容器（指定容器 A）：中央診断用 1 本に検体 2 個
指定容器 A には一次登録コードを記載したり、シール等を貼らない。
- ② SRL 指定凍結検体提出用滅菌ポリスピッツ：BBJ 保存 DNA 抽出用, 1 本に検体 2-4 個
ポリスピッツのラベルには何も記載しないこと。採取日と一次登録コードを記載した任意の袋にいれて提出すること。

上記①,②ともに以下に送付する。②に関しては成育から SRL に DNA の抽出を依頼するため、施設からの SRL 用伝票の記入は不要で、小児固体腫瘍観察研究「中央診断用検体送付票」のみを添付して送付すればよい。

検体送付先：国立成育医療研究センター

JCCG 病理診断委員会事務局（中央診断事務局） 義岡 孝子（よしおか たかこ）

国立成育医療研究センター病理診断部（病院 3F）

〒157-8535 東京都世田谷区大蔵 2-10-1

TEL: 03-5494-7120 (内線 7499) FAX: 03-5727-2879

E-mail: office_path@ncchd.go.jp

* (凍結検体は「本人手渡し」と朱記すること)

c. 正常末梢血 (BBJ で試料提供の同意が取れている場合)

「p4. 検体提出の一般的手順 3) 正常末梢血」に従う。

SRL 専用 EDTA-2 Na 採血管に 5ml (乳児は 2~5ml) 採取し、末梢血用 BBJ 専用伝票 (匿名化専用依頼書 C) とともに SRL に提出する。

できれば治療開始前、困難であれば化学療法終了後の白血球回復時に採血をする。

7. 頭蓋外胚細胞腫瘍

通常の病理診断については一般的手順(p.4, 2)の(1))に従う。

AGCT1531 摘出検体取り扱い(AGCT1531 参加症例のみ)

外科的治療によって切除された病変の下記病理検体 1-3 を室温で送付する。

1. H&E 染色済みのスライド一式

下記 a-c に示す手順・基準を参考に、各組織塊から切り出したもの

2. ホルマリン固定パラフィン包埋組織塊または未染標本 10 枚(3~5 μm 厚、免疫組織化学検査用コーティングされたスライドを使用すること)

原発性及び転移性胚細胞腫瘍の各組織型につき代表的部位を1個以上のホルマリン固定パラフィン包埋組織塊で提出する。塊が入手できない場合は、代表的部位のホルマリン固定パラフィン包埋組織塊から免疫組織化学的染色用の未染色の組織切片を10枚切り出して提出する。

3. 施設病理診断書

a. 性腺外腫瘍

切除断端に最も近い部分、腫瘍内の肉眼所見の異なる領域、軟部組織と腫瘍の境界部分から代表的な組織を採取する。腫瘍最大径1cmにつき1個のブロックを作製する。仙尾部腫瘍では尾骨標本も作製する。

肉眼的に転移のないリンパ節の全てを標本とし、肉眼的に転移があるリンパ節は少なくとも1cmあたり1個の標本を作製し、大きさとリンパ節の部位を明示する。

b. 精巣腫瘍

ブロックが10個以下で足りれば、腫瘍全体を標本にする（特殊な検索目的のために取り分けておいてよい）。腫瘍径が10cm以下であれば10個のブロックを作製して標本にする。腫瘍径が10cmを超える場合は1cmあたり1個を標本にする。リンパ管侵襲を評価するためにこれらの標本のうちのいくつかは腫瘍と非腫瘍部の境界部分を含むようにする。また、脈管侵襲を評価するために腫瘍から離れていても白膜の標本を作製する。腫瘍が多巣性であればそれぞれの腫瘍からも標本を作製する。また、以下の部位から標本を作製する。

すなわち、標本にするのは以下の組織である。

- 腫瘍本体（周囲の非腫瘍組織との境界部、白膜を含む）
- 肉眼的に異なる腫瘍部位
- 精巣門、mediastinum hilus
- 腫瘍のない精巣組織（白膜を含めて）
- 精巣上体
- 精索（断端を含む）
- その他の病変部
- 全てのリンパ節
- その他提出された組織

* 大きい場合は肉眼所見が異なる部分を含めて1cmあたり1個を標本にすることが推奨される。

* AGCT1531研究では精索断端とは別に近位側5cmの部位からも別に精索の標本を作製する。

* 腫瘍周囲の精巣組織の観察はgerm cell neoplasia in situの有無を見るためにも重要である。

c. 卵巣腫瘍

腫瘍が明らかに悪性で、肉眼所見が均質な場合、そのような症例のほとんどで多数の標本を作

製する必要はない。しかし、剖面や囊胞を開いた時に肉眼所見が多彩である場合には多数の標本を作製する必要がある。粘液性腫瘍（特に充実成分がある場合）、充実性奇形腫、悪性胚細胞腫瘍では丁寧な肉眼観察と多数の標本作製を要する。鑑別診断に苦慮する場合には、免疫染色などの特殊検索を行うよりも追加標本を作製することの方が有効であることが多い。

微小乳頭型漿液性境界悪性、微小浸潤を伴う漿液性境界悪性腫瘍が小児期に発生することはほとんどない。

8. 骨腫瘍

骨腫瘍では、検体に加えて以下の書類もご提出ください。

診断に用いた画像のうちの主要画像数枚（各画像をパワーポイントに貼付してください。ただし DICOM 規格の画像ディスクはサイズが大きく、閲覧することができない場合が多いため、不可）

9. その他

その他、腫瘍型ごとに、以下のような診断的に有用な分子解析を行う。サンガーシークエンスや次世代シークエンス（網羅的な融合遺伝子標的エクソンシークエンスなど）などを含む追加解析を症例に応じて行うことがある。原則として凍結検体を用いた解析を行うが、FFPE を用いた FISH を行うこともある。

CIC 再構成肉腫 CIC-DUX4

BCOR-CCNB3 肉腫 BCOR-CCNB3

線維形成小細胞腫瘍 EWSR1-WT1

滑膜肉腫 SS18-SSX1/2/4

明細胞肉腫（軟部） EWSR1-ATF1, EWSR1-CREB1

乳児型線維肉腫・先天性間葉芽腎腫（富細胞型） ETV6-NTRK3

先天性間葉芽腎腫（古典型） EGFR-ITD

腎明細胞肉腫 BCOR-ITD, YWHAE-NUTM2

Xp11.2 転座/TFE3 融合遺伝子を伴う腎癌 ASPSCR1-TFE3, PRCC-TFE3, SFPQ-TFE3

胞巣状軟部肉腫 ASPSCR1-TFE3