

てる時ときも副作用ふくさようの強つよさに合あわせてお薬くすりの量りょうを少すくなくしたり、使用しようする日かを遅おくらせたり、場合ばあいによ  
つてはお薬くすりを使うつかのを中ちゅう止しします。体からだの調子ちょうしがいつもと違ちがったらすぐたんとに担当とうの先生せんせいか、お父とうさん  
お母かあさんに話はなして下ください。

## 8. プライバシー

この研究けんきゅうに参加さんかしたあなたなまえの名前じゆうしょや住所すべなどは全なまえてふせられています。あなたじゆうしょの名前なまえや住所じゆうしょ  
は他ほかの人ひとにはわからないようにしています。

## 9. 参加しない場合

この研究けんきゅうに参加さんかするかしないかはあなたじゆうの自由かんがです。よく考とうえてお父かあさんお母はなしさんとも話はなしあ  
ってください。この研究けんきゅうに参加さんかしたくない場合ばあも違ちがうお薬くすりを使つかったり手しゆじゆつ術ほうしゃせんや放射線ほうしゃせんをおこないま  
す。今こんご後ごあなたつあにとって都合あが悪わるくなることあんしんはありませんので安くだ心しんして下ください。

## 10. 参加取りやめについて

いちど参加さんかすると決きめたあとでも、いつでもこの研究けんきゅうに参加さんかする事ことを取り消とす事けができます。  
遠えんりょ慮りょしないいで言くだって下ください。

## 11. 質問の自由

この研究けんきゅうに対して、わからないことしつもんや質問しつもんがあるときは、担当たんとの先生せんせいに聞きいて下ください。

りょうしょうしょ  
了承書

わたし げんきよくせい こくしゆ しゆよう しゅうがくてきちりょうほう  
私は「限局性ユーイング肉腫ファミリー腫瘍に対する集学的治療法の

どいにそうりんしょうしけん はなし ないよう りかい  
第Ⅱ相臨床試験」についてお話を聞き、内容を理解しました。

うえ とう かあ そうだん よ かんが うえ しけん さんか こと  
その上でお父さん、お母さんとも相談し、良く考えた上でこの試験に参加する事に  
き  
決めました。

りょうしょうび へいせい ねん がつ にち しめい  
了承日 平成 年 月 日 氏名

---

わたし とうがいかんじゃ しけん こうとう ぶんしょ じゅうぶん せつめい  
私は当該患者に対し、この試験について口答および文書で十分に説明し、  
しけん さんか え  
この試験の参加についてアセントを得ました。

しゆとくかくにん へいせい ねん がつ にち  
アセント取得確認日 平成 年 月 日

たんとういししめい  
担当医師氏名

### (3) JESS 組織バンクポリシー

# JESS 組織バンクにおける 検体保存と二次利用のポリシー

第1版 平成16年12月26日

日本ユーイング肉腫研究グループ（JESS）組織バンク

# 目次

目次 .....	1
前文 .....	2
1. JESS 組織バンクの目的 .....	3
2. 検体保存と二次利用に関する基本的な考え .....	3
3. 検体保存を行う対象患者および対象検体 .....	3
4. 二次利用によって行う研究の範囲 .....	3
5. 検体提供を行う医療機関および研究者 .....	4
6. 保存検体の研究利用を行う研究機関 .....	4
7. 研究審査委員会 .....	4
8. 個人情報管理者 .....	4
(1) 本組織バンクと提携した個人情報管理者 .....	4
(2) 検体の提供を行う医療機関の個人情報管理者 .....	4
(3) 保存検体を利用して研究を行う研究機関の個人情報管理者 .....	5
9. 検体の取扱いと個人情報保護のためのシステム .....	5
10. 説明と同意（インフォームド・コンセント） .....	6
11. JESS 組織バンクの体制 .....	7
付. JESS 研究「限局性ユーイング肉腫ファミリー腫瘍に対する集学的治療法の第 II 相試験」における検体と患者情報の流れ .....	8
1. 検体の流れと中央病理診断（JESS 検体センター） .....	8
2. 附随研究のための検体送付 .....	9
附随研究「骨髄・末梢血の微小病変検出」の検体送付について .....	10
3. 余剰検体の保存と匿名化 .....	10
4. JESS 研究組織 .....	11

## 前文

小児期に発生する悪性腫瘍(以下、小児がん)は、その発生頻度は非常に稀であるにもかかわらず、15歳未満の小児の死因の第二位を占め、その克服が望まれる重要な疾患である。小児がんの病態解明のための基礎研究や、治療開発のための臨床研究が積極的に推進された結果、先進国における小児がん患者の長期生存率は70~80%に達しようとしている。しかしながら、残りの20~30%の患者においては、現在ある治療方法によって治療不可能な特性を持った小児がんであると考えられる。その一方で、長期生存者においては、大量の抗がん剤や放射線を用いた事による晩期障害や、将来の二次癌の発症など、新たな問題も発生している。これらの諸問題を克服するための研究は、より積極的に、より大規模に、より精確に計画された方法によって、推進されるべきである。

稀少疾患としての小児がんを対象として、このような観点から研究を推進していくために、臨床試験の分野では、研究デザインやデータ品質を管理するためのデータセンターを擁した複数の臨床試験グループの活動が本格化している。一方、これらのグループが運営する臨床試験に附随する形で、臨床医学に直接役立つ基礎研究、すなわち、トランスレーショナル・リサーチを推進しようとする活動も起きている。この活動においては、患者由来の余剰腫瘍検体を研究のために二次利用し、連結可能匿名化システムを通して患者の臨床情報にリンクして、腫瘍の基礎研究情報と臨床特性や生命予後などとの関係を明らかにしようとしている。

従来、小児がん領域の各々の臨床試験グループが、このような患者検体の利用法を考案し、独自のアイデアで独立して研究を行ってきた実情がある。しかしながら、稀少疾患であるため患者由来検体の集積が容易ではない事、小児という特殊な対象であるため十分に患者権利が保障される形での研究が必要である事、社会情勢の変化によってより高度な個人情報保護のシステム化が必須である事、等を鑑み、これらの問題点を解決して小児がん研究者を支援し、それを通じて小児がん患者の診断・治療開発に貢献できるようなシステムの開発を目指してきた。これが小児がん領域における「組織バンク」設立を目指した活動の経緯である。

小児がん領域における「組織バンク」活動は、平成14年度厚生労働科学研究費補助金(効果的医療技術の確立推進臨床研究事業:小児分野)「小児肉腫に対する至適治療確立のための臨床試験およびその基盤整備に関する研究(主任研究者:牧本敦)」および、平成16年度厚生労働科学研究費補助金(対がん10カ年総合戦略事業)「難治性小児がんの臨床的特性の分子情報とその理論を応用した診断・治療法の開発(主任研究者:秦順一)」のサポートによって、国立成育医療センター研究所内にて開始され、日本横紋筋肉腫研究グループ(JRSG)の臨床試験をモデルケースとした「JRSG 組織バンク」として国立成育医療センターの倫理委員会承認を受けて活動している。

この冊子は、日本ユースング肉腫研究グループ(JESS)の臨床試験とその附随研究の開始に当たり、「JESS 組織バンク」における患者由来検体の保存と、その研究的二次利用のためのポリシーを明らかにするとともに、そのシステムを一般化し、多くの研究者、患者、およびその家族の理解を得る事によって、将来のより積極的に、より大規模に、より精確に計画されたトランスレーショナル・リサーチの推進に寄与するために作成されたものである。

## 1. JESS 組織バンクの目的

日本ユーズイング肉腫研究グループ（JESS）組織バンク（以後「本組織バンク」）は、小児がん患者由来の余剰腫瘍検体を、個人情報保護される一定の手順に基づいて保存し、患者権利が守られる形で二次的研究利用が行われるように、多施設臨床研究グループの研究活動を補助し、それによって小児がん患者の治療開発に貢献しうるトランスレーショナル・リサーチを推進し、もって長期的視野で医学の発展と国民の福祉に貢献する事を目的とする。

## 2. 検体保存と二次利用に関する基本的な考え

平成 15 年 5 月に成立した個人情報保護法においては、学術研究に関し、民間事業者等の遵守すべき義務等の規定が適用除外とされている。平成 17 年 4 月の同法の全面施行を控え、厚生科学審議会科学技術部会内で「医学研究における個人情報の取扱いの在り方に関する専門委員会」が設置され、医学研究における個人情報の取扱いが議論されている最中である。

このような状況のため、現段階では、以下に挙げる厚生労働省における医学研究指針を法的根拠とし、これらの指針の関連する事項の精神を継承し、それに矛盾しない形で本ポリシーを策定し、これに沿って研究活動を行う事とする。

1. ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針
2. 遺伝子治療臨床研究に関する倫理指針
3. 疫学研究に関する倫理指針
4. 臨床研究に関する倫理指針

## 3. 検体保存を行う対象患者および対象検体

検体保存を行う対象患者および対象検体は、以下の条件を満たす事とする。

1. 新規発症または新規再発の小児がん患者
2. 確定診断等、臨床上必要な手技によって採取された腫瘍組織検体
3. 上記 2. の検体が、臨床上必要な全ての検査を終了しても、なお余剰のあること
4. 本ポリシー第 8 項に規定する説明文書の内容を十分に理解し、検体の保存と研究的な二次利用に関して書面にて同意が得られている

## 4. 二次利用によって行う研究の範囲

腫瘍組織検体を使用し、腫瘍の生物学的特性を研究する事を目的とした全ての研究が対象となる。ただし、本組織バンクを利用しようとする研究者またはグループは、本組織バンクの特性を理解し、そのリソースの利用に見合う成果を期待できる研究計画書を提出しなければならない。本組織バンクの特性を生かした研究とは、連結可能匿名化を基本とした臨床情報と基礎研究結果の連結によって、直接臨床医学の発展に貢献しうるトランスレーショナル・リサーチであり、本組織バンクはこのような研究を優先して支援する。なお、正常細胞に含まれる遺伝情報を対象とした研究、すなわち、ヒトゲノム・遺

伝子解析研究は検体保存と二次利用の対象外とする。

## 5. 検体提供を行う医療機関および研究者

日本ユーイング肉腫研究グループ(JESS)に属し、同グループが実施する臨床試験のプロトコールが施設倫理審査委員会によって承認されている施設でなければならない。

検体提供を受ける研究者は、検体提供と二次利用による研究の意義を理解すると同時に、提供者又は代諾者等への十分な説明とその自由意志による同意手続きを行う努力を惜しまず、かつ、職務上知り得た個人情報の守秘を厳守できる者でなければならない。

## 6. 保存検体の研究利用を行う研究機関

本組織バンクを利用して行う研究の実施の可否を厳正に審査しうる倫理審査委員会を擁し、施設の長の監督及び指導の元に研究責任者および研究担当者が研究計画に沿って適正に研究を実施できる環境が整い、かつ、個人情報の漏洩防止のための措置が十分に講じられていなければならない。

## 7. 研究審査委員会

日本ユーイング肉腫研究グループ(JESS)は、その内部規約に基づいてグループ内に研究審査委員会を組織し、科学的かつ倫理的に妥当な研究を採択し、実行する義務を負う。研究審査委員会の組織構成や研究計画の採択の仕方に関しては、JESS 規約の通りこれを行う。

## 8. 個人情報管理者

### (1) 本組織バンクと提携した個人情報管理者

本組織バンクと提携した個人情報管理者を置く。ただし 1 つの研究に複数の個人情報管理者を置く事はせず、必ず 1 名の個人情報管理者及び必要があればその分担管理者が 1 つの研究の全ての検体を管理する事とする。

個人情報管理者は、検体提供者(患者)の個人情報及び臨床情報にアクセスしうる症例識別番号を検体から外し、組織バンク固有の症例識別番号である「バンク番号」に振り替えて保存検体の管理者へ検体を渡す(連結可能匿名化)。また、二つの症例識別番号の符号表を保持し、その連結に関する守秘義務\*を負う。

\*本組織バンクと提携した個人情報管理者及び分担管理者は、刑法第 134 条、国家公務員法第 100 条、又はその他の法律により、業務上知り得た秘密の漏洩を禁じられている者でなければならない。

### (2) 検体の提供を行う医療機関の個人情報管理者

検体の提供を行う医療機関において、実際の検体を取り扱うのは、刑法第 134 条によって守秘義務を負う医師又は看護師であるので、医療機関から検体の提供を行う際には個人情報管理者を介する必要はない。ただし、臨床研究の目的で個人情報を含む臨床情報を中央事務局又はデータセンターに収集する際には、その主体となる研究グループ及びその代表者が個人情報漏洩防止のための十分な



対策を講じなければならない。

### (3) 保存検体を利用して研究を行う研究機関の個人情報管理者

本組織バンクを利用して研究を行う研究機関に検体が提供される場合には、既に8-(1)に記載する連結可能匿名化の措置がなされており、研究責任者及び研究担当者が個人情報を知る事はない。このため、研究機関内に特定の個人情報管理者を置く必要はない。ただし、研究が検体提供者の臨床情報を必要とする場合には、個人情報を介さずに臨床情報と連結する方法を、あらかじめ十分に検討し、研究計画書に記載しておかなければならない。

## 9. 検体の取扱いと個人情報保護のためのシステム

臨床試験とリンクしたトランスレーショナル・リサーチにおいては、検体の送付に先立って、臨床試験への患者登録がなされ、患者固有の症例登録番号が発行されている場合が多い。さらに、小児がんはしばしば施設における正確な病理学的確定診断が困難であるために、研究グループとして中央病理診断を必須としている研究が多い。また、腫瘍の特性として、確定診断のためにキメラ遺伝子解析等が必須となる腫瘍もある。以上のような背景から、多くの研究グループでは、症例登録番号を患者識別番号として、診療の一部として実施される中央病理診断のために患者由来検体を研究事務局又は事務局の指定する研究機関に送付している現状がある。

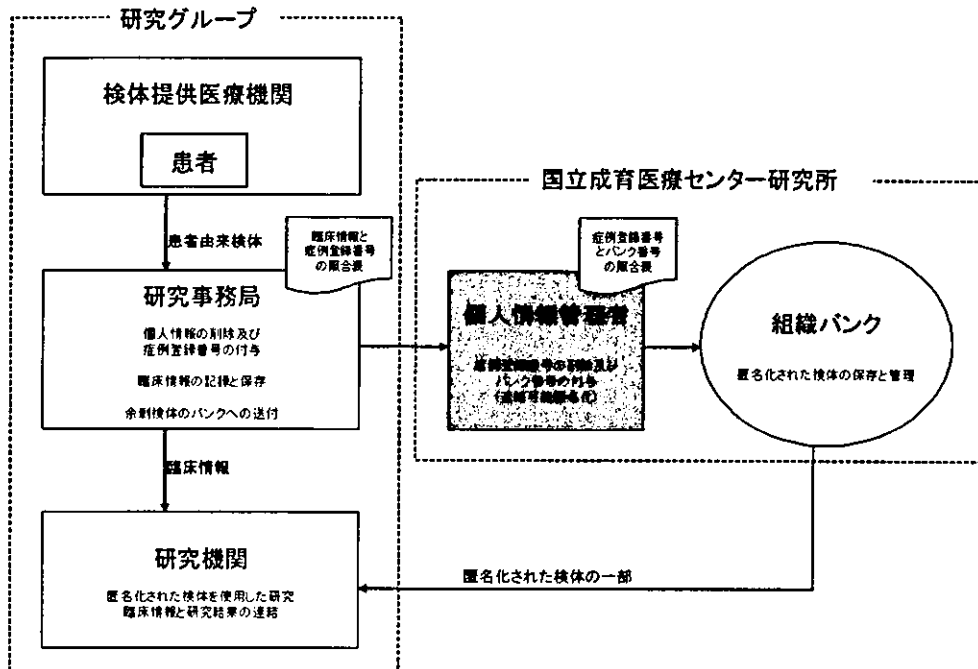
本組織バンクでは、この実状に即した形で、臨床試験への登録症例において、診療としての中央病理診断・遺伝子診断の目的で研究事務局又は研究機関に送付された検体のうち、これらが終了した後の余剰検体を第三者的に連結可能匿名化して保存し、その後のトランスレーショナル・リサーチに役立つというシステムを基本とする。

図1および8-(1)に示す個人情報管理者は、検体提供者(患者)の臨床情報にアクセスしうる症例識別番号を検体から外し、組織バンク固有の症例識別番号である「バンク番号」に振り替えて保存検体の管理者へ検体を渡す(連結可能匿名化)。また、二つの症例識別番号の符号表を保持し、その連結に関する守秘義務を負う。

研究機関において、組織バンクの検体を利用した研究がなされ、基礎研究結果と臨床情報や臨床試験結果との連結が必要な段階では、個人情報管理者のもつ符号表が必要となるが、この「再連結」の具体的な方法は、研究事務局に委ねる。

登録症例の検体を保存していた臨床試験が終了し、全ての予定された研究結果の解析が終了した後は、もはや保存検体を連結可能としておく必要性が乏しくなり、かつ、長期間の符号表の保持によって個人情報の漏洩の危険性の方が相対的に重視されるため、研究事務局の定める一定期間の後は、個人情報管理者の保持している症例登録番号とバンク番号の照合表を破棄し、連結不可能匿名化する。

図1 組織バンクを利用した研究における検体の流れ



## 10. 説明と同意（インフォームド・コンセント）

検体の保存及びその二次利用を含むトランスレーショナル・リサーチの説明と同意は、提供者又は代諾者等に対して、以下のような点に留意してもらえなく説明を行い、書面にて自由意思による同意を得なければならない。本組織バンクが関わる研究は、小児がんの研究であるから、提供者のほとんどは未成年者である。よって、代諾者等から同意を得る事が必須となるが、提供者本人にも十分な説明を行い、理解が得られるように努めなければならない。提供者が 16 歳以上の場合は、提供者本人の同意は必須である。

### 説明文書に含まれるべき内容

1. 研究の意義
2. 研究の目的
3. 研究の方法
4. 予測される結果
5. 提供者が被る可能性のある不利益
6. 研究への参加が本人の自由意思に基づくものであること
7. 同意の撤回の自由
8. プライバシーの保護と研究結果の発表
9. 検体の保存及び使用方法
10. 研究体制

## 11. JESS 組織バンクの体制

### JESS 組織バンク責任者

藤本 純一郎  
国立成育医療センター研究所 副所長  
発生・分化研究部長(兼任)  
〒157-8535 世田谷区大蔵 2-10-1  
TEL:03-3416-0181(内線 4052)  
FAX: 03-3416-4147  
E-mail: jfujimoto@nch.go.jp

### 個人情報管理者 代表

掛江 直子  
国立成育医療センター研究所 成育保健政策科学研究室長  
〒157-8535 世田谷区大蔵 2-10-1

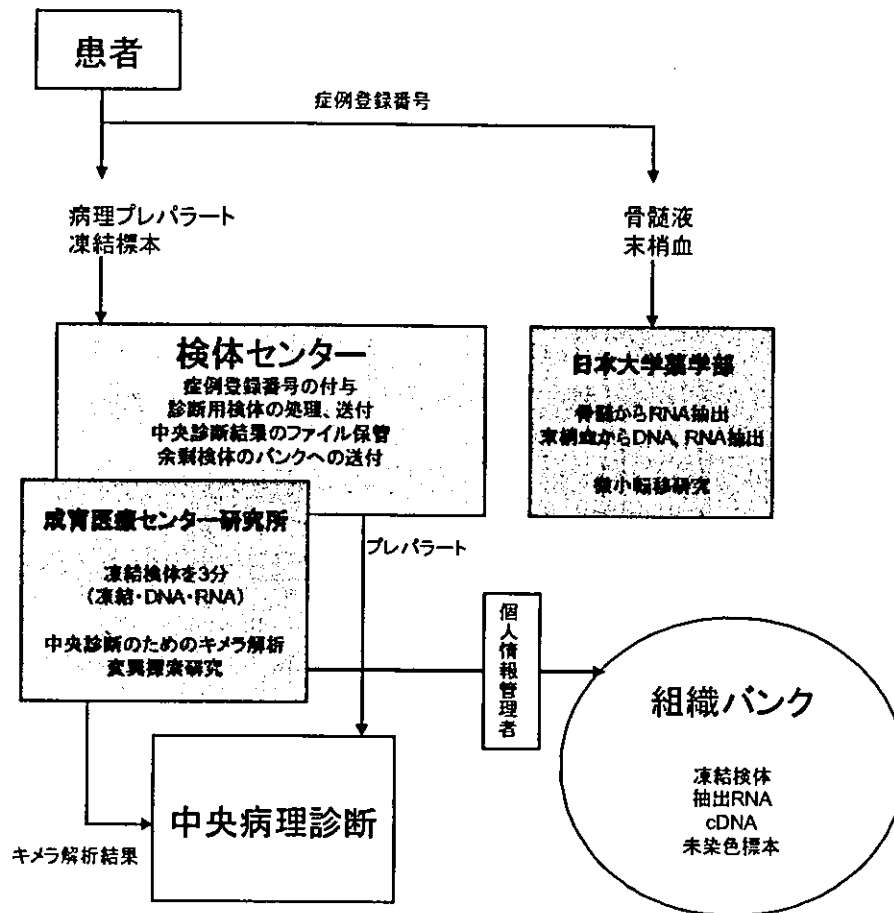
JESS 組織バンクの活動は以下の公的研究補助金によって補助されている。

平成 16 年度厚生労働科学研究費補助金(対がん 10 力年総合戦略事業)「難治性小児がんの臨床的特性の分子情報とその理論を応用した診断・治療法の開発(主任研究者:秦順一)」

平成 16 年度厚生労働科学研究費補助金(小児疾患臨床研究事業)

「小児肉腫に対する至適治療確立のための臨床試験およびその基盤整備に関する研究(主任研究者:牧本敦)」

付. JESS 研究「限局性ユーイング肉腫ファミリー腫瘍に対する集学的治療法の第II相試験」における検体と患者情報の流れ



1. 検体の流れと中央病理診断（JESS 検体センター）

- (1) JESS 研究に利用される患者由来検体（病理プレパラートおよび凍結検体）は、JESS 事務局を bypass せず、国立成育医療センター内の「JESS 検体センター」に直接送付されます。患者由来検体には、施設担当医によって、施設名と患者イニシャルが記載されています。この時には、症例登録番号はまだ発行されていない事が多いので、検体センター内では患者イニシャルによる同定をします。JESS 研究では中央病理診断の結果が患者の治療に反映されるため、患者取り違えを防止するためにイニシャルを用いる事は倫理的に妥当であると考えています。「JESS 検体送付票」によって検体センターへ知らされる患者情報は以下の通りです。

施設名、登録医、患者イニシャル、年齢、性別、原発部位、検体採取年月日

- (2) データセンターにて症例登録が完了すると、データセンターより JESS 検体センターに以下の診療情報が伝達されます。

症例登録番号、患者イニシャル、年齢、施設、採取部位、経過

- (3) JESS 検体センターは、患者由来検体から個人情報を削除し、「症例登録番号」を付与します。これから後の中央病理診断の各ステップは基本的に「症例登録番号」を用いて行われ、患者の特定が可能な個人情報（イニシャル、生年月日等）が用いられることはありません。
- (4) 中央病理診断では、以下の病理医によって症例登録番号の付いた病理プレパラートがレビューされます。この際、中央病理診断に必要な患者情報として、年齢、性別、採取部位、施設、簡単な臨床経過、が、検体センターより知らされます。

#### JESS 中央病理診断委員会

秦 順一 国立成育医療センター研究所 (委員長)  
石田 剛 NTT 関東病院 病理科  
長谷川 匡 国立がんセンター中央病院 病理部

- (5) JESS 検体センターにおいて、凍結検体のキメラ解析用処理（RNA 抽出および cDNA 合成）が行われた後、検体センターはこの検体に症例登録番号を付加して、以下のキメラ解析施設へ送付します。キメラ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ます。

#### キメラ解析担当者および施設

大喜多 肇  
国立成育医療センター研究所 発生・分化研究部 室長

- (6) 中央病理診断結果は、委員長から JESS 検体センター事務局、JESS 事務局および施設へ通知されます。

## 2. 附随研究のための検体送付

- (1) JESS 臨床試験の附随研究は、以下の 3-(4)に記載する保存検体を利用して行うものと、臨床試験の開始と共に附随研究用の検体を研究機関宛に提供していただく場合があります。ここでは後者について説明します。
- (2) このような附随研究は、明確な目的を持って行われるため、診断が確定し、臨床試験への登録が行われ、症例登録番号が発行されてから、症例登録番号を付けた検体の送付を行います。「JESS 検体送付票」によって検体センターへ知らされる患者情報は以下の通りです。

施設名、登録医、症例登録番号、年齢、性別、原発部位、検体採取年月日
- (3) 附随研究の各ステップは基本的に「症例登録番号」を用いて行われ、患者の特定が可能な個人情報（イニシャル、生年月日等）が用いられることはありません。
- (4) これら附随研究の研究結果は、研究の終了まで患者に知らされる事はなく、学会発表や論文を通じて一般に公開する事となります。

## 附随研究「骨髄・末梢血の微小病変検出」の検体送付について

本附随研究では、「限局性 Ewing 肉腫ファミリー腫瘍に対する集学的治療法の第 II 相試験」に登録された患者のうち、骨髄及び末梢血を当該研究に提供される事に同意された方が対象となります。骨髄及び末梢血には腫瘍細胞が発見されない例が対象なので、正常細胞を多く含む検体です。これらの検体は、研究機関である日本大学薬学部へ直接送付され、JESS においてあらかじめ計画された附随研究に利用された後、保存されることなく破棄されます。

### 3. 余剰検体の保存と匿名化

- (1) 施設の担当医は、「小児がん研究のための余剰検体の提供に関するお願い」に基づき、余剰検体の保存と二次利用に関する同意を得ます。その後、JESS 検体センター事務局は、同意の取得を確認した後、個人情報管理者（成育医療センター研究所 掛江 直子）に依頼して、連結可能匿名化を実施し、バンク番号を発行します。JESS 番号とバンク番号の照合表は、個人情報管理者が保管し、第三者がこれを知ることはありません。
- (2) バンク番号および病理診断結果の付加された余剰検体は、「JESS 組織バンク」責任者（成育医療センター研究所 藤本 純一郎 副所長）に移送され、保管されます。
- (3) JESS 臨床試験の各プロトコールに記載された患者登録期間と規定の経過観察期間が終了した時点で、JESS 事務局はこれに附随する基礎研究の進捗を確認し、進行中の基礎研究における保存検体の利用が終了していることを確認します。その後、JESS 検体センター事務局へ連絡し、これを受けた JESS 検体センター事務局は個人情報管理者に依頼して、該当する試験参加患者の余剰検体を連結不可能匿名化して、再度「JESS 組織バンク」に保存します。
- (4) これら保存された検体は、JESS 参加施設の先生方から申請され、JESS 研究審査委員会にて審査・承認を受けた基礎研究計画のために提供されます。
- (5) JESS 研究審査委員会では、本冊子の前半部に記載された「JESS 組織バンクポリシー」に従い、個々の基礎研究計画について、その科学的・倫理的妥当性、および研究の実行可能性を厳正に審査します。審査は JESS 規約に定める手順に従って行い、結果は申請者へ郵送にて通知されます。

JESS 研究審査委員会（平成 16 年 12 月現在）

秦 順一	国立成育医療センター研究所	（委員長）
牧本 敦	国立がんセンター中央病院	小児科
石川久美子	東京医科歯科大学	小児科

## 4. JESS 研究組織

### JESS 研究事務局

陳 基明 日本大学板橋病院 小児科

### JESS 中央病理診断委員長/JESS 研究審査委員長/JESS 検体センター責任者

秦 順一 国立成育医療センター研究所 所長

### JESS 組織バンク責任者

藤本 純一郎 国立成育医療センター研究所 副所長

### 個人情報管理者

掛江 直子 国立成育医療センター研究所 成育保健政策科学研究室 室長

### JESS 検体センター事務局/キメラ遺伝子解析責任者

大喜多 肇 国立成育医療センター研究所 発生分化研究部 室長

### 小児がんデータセンター データセンター長

牧本 敦 国立がんセンター中央病院 小児科

### JESS グループ代表者

麦島 秀雄 日本大学医学部 細胞再生移植医学講座 教授

#### (4) JESS 検体取扱・病理診断マニュアル



## 1. 生検検体の取扱いと診断

### (1) 検体の取扱い

生検検体は、各施設にて通常行われている固定法（10%ホルマリンなど）を使用する。ESFT の確定診断には遺伝子診断の必要性が高いので、できるかぎり腫瘍組織を凍結保存する（3(2)の項、参照）。検体が充分得られる場合は電顕用の固定、捺印標本を作製する。

通常、ESFT の生検検体は小片しか採取できないことが多く、腫瘍の性格上、人工産物（artifact）も強い。そのため、外科、整形外科医には可能な限り大きな検体（最低でも 0.5～1 cm 角程度のものを可能であれば複数個）を採取するよう要望する。

### (2) ESFT の病理学的診断

ESFT は小児の”小円形細胞腫瘍”の中でも最も確定診断が困難な腫瘍である。この点を十分に念頭に置き、以下の診断法を併用することが望ましい。

#### A) 病理形態学的診断

ESFT の病理診断のためには通常の HE 染色に加えて免疫染色が必須である。用いる抗体は CD99(MIC2)のほか、鑑別診断のため desmin、muscle-specific actin、myogenin などの筋肉系のマーカーや、S-100、神経線維蛋白 (NFP)、cytokeratin、CD45 (leukocyte common antigen)、tyrosine hydroxylase (TH)、T 細胞、B 細胞のマーカー等をもちいることが推奨される。本腫瘍はしばしば、多様な形質を示すのでこれらの抗体のパネルで検索することによって鑑別診断ばかりでなく、ESFT の特性を明らかにするのに役立つ。

#### B) 遺伝子診断

検体センターにて凍結組織から RNA を抽出し、RT-PCR 法を行ない、ユーイング肉腫ファミリーに特異的なキメラ遺伝子の発現の有無を検討する。検討する遺伝子は、*EWS/FLI1*、*EWS/ERG*、*EWS/ETV1*、*EWS/E1AF*、*EWS/FEV* の 5 種類である。

## 2. 手術検体の取扱いと診断

### (1) 検体の取扱いと標本作製

充分量の固定液（10%ホルマリン等）を用いる。検体が多い場合は固定が充分できるように、検体を適当な大きさにスライスして固定する。但し、割を入れたままホルマリン液に浸漬すると筋肉部分が収縮し切除縁の評価が難しくなるので、割を入れてホルマリンが浸み易くした後、最表層を糸で縫合しておくことが望ましい。翌日、周囲が固定された後にスライスしホルマリンを換える。この際、骨を 1cm 以下の厚さにスライスしておくことで脱灰が早く出来る。骨標本のスライスには電動鋸を用いるが、刃にダイヤモンドをコーティングしたものをを用いると安全に 5～7mm の厚さにスライスすることが出来る。切り出しに際しては、手術を担当した医師が立ち会った上で病理医が行うことが望ましい。画像所見を参考とし腫瘍

の代表的な断面を作製する。必要に応じ断面を追加する。また、手術の切除縁を詳細に確認し、その確認のため、切除後速やかに切除縁を墨汁、ヘマトキシリン液で塗布するような方法も試みる必要がある。切除縁から切片を採取することは再発など予後とも関わるので、特に重要である。代表的な断面の病変全体を標本とし、必要に応じて標本を追加する。化学療法後の有効性を判定するために、最低限でも代表的な断面の病変全体を標本とすることを必須とする。

## (2) 病理組織学的診断

HE 標本とともに上記 1・(2)に記載した免疫染色を行うことが確定診断のために重要である。また、手術検体については切除縁の評価を 4.2「切除縁の定義」に従って行う。

## (3) 初期化学療法の有効性の評価

初期化学療法の有効性の評価は、4.5「初期化学療法の有効性評価のための病理組織学的グレード」に則って行う（手術可能症例では必須）。上記の手順に従って、手術標本から作製した HE 標本全てを鏡検し、初期化学療法による効果を判定する（表 1）。

表 1. 初期化学療法の有効性評価のための病理組織学的グレード

Grade I	効果なし、あるいは、ほとんど効果なし
Grade II	一部に化学療法の効果を認める。
Grade III	化学療法によると考えられる壊死、線維化を 90%以上の範囲に認めるが、生存細胞も認められる。
Grade IV	生存細胞を認めない。

## 3. 中央病理診断用検体および附随研究用検体の準備の手順

### (1) 中央病理診断用に提出する検体

#### 1) 病理組織標本

登録施設は、根拠となる病理診断が下された代表的な組織標本の HE 染色標本 2 枚、未染標本 10 枚（ホルマリン固定パラフィン切片、シランコートスライドガラス使用）を提出する。標本には、登録施設名と患者イニシャル（および症例登録番号を持っている患者はその番号）を鉛筆で記載する。化学療法後の手術検体の提出は不要である。

注1) 複数回の生検を行っている症例では、最も診断的根拠が高いと考える検査時の標本、すなわち施設の登録根拠となった標本を送付する。

注2) 中央病理診断委員会が診断上必要と判断した場合は未染標本の追加提出を依頼する場合がある。

注3) 未染標本 10 枚の提出が困難な場合は、可能な枚数の未染標本を提出する。

注4) 未染標本がない場合には、登録施設で保管されている診断の根拠となった染色済み標本を提出する。

注5) 病理組織診断を行うための検体が提出されない場合は本試験への参加を不可とする。

## 2) 凍結検体

以下の a) または b) の方法で作製した凍結検体を、ドライアイスと共に $-20^{\circ}\text{C}$ 以下に保ちつつ、検体センターへ送付する。臨床試験に登録済みの患者検体の場合は、検体のチューブ等に登録施設名と症例登録番号を記載する。臨床試験に登録前の患者検体の場合は、施設名、年齢、性別のみを記載する。

### a) OCT コンパウンドによる凍結検体 (免疫染色および遺伝子解析両方に使用可能であり推奨される。施設病理にて通常用いられている方法で良いが、以下に実例を挙げる。)

- ① 5mm～1cm 大の腫瘍組織をあらかじめアルミホイルで作製した簡単な容器の中に入れる
- ② その上から OCT コンパウンド (病理検査室で迅速標本作製の際に用いるのり状のもの) を検体よりやや多めに入れる。
- ③ 検体と OCT コンパウンドが入ったアルミホイル容器を、あらかじめ用意しておいたドライアイス・アセトン内に静置する。その際、容器内にアセトンが入らないようにする。
- ④ 数分後に OCT コンパウンドが完全に凍結したら、アルミホイル容器をよく振ってアセトンを飛ばす。そのままディープ・フリーザー ( $-80^{\circ}\text{C}$ ) の中で保管する。これ以降は解凍してはならない。

### b) Snap freeze

2ml 程度のチューブに腫瘍組織をいれ、液体窒素またはドライアイス・アセトンでそのまま凍結する。

注 1) OCT コンパウンドで凍結した検体がより望ましいが、Snap freeze でも良い。採取された腫瘍組織が大きい場合は、複数個、検体センターへ送る。

注 2) 凍結検体が、検体センターに到着するまで絶対に融解しないように充分な注意を払う必要がある。

## 3) 可能な限り検体センターに送付すべき検体

以下の検体は、中央病理診断用検体が不足した際に補助検体として用いる目的、および、小児がん組織バンクに保存して将来の基礎研究に役立てる目的で、可能な限り検体センターへ送付する。臨床試験に登録済みの患者検体の場合は、登録施設名と症例登録番号を、検体容器に記載する。臨床試験に登録前の患者検体の場合は、施設名、年齢、性別のみを記載する。

- 1) ホルマリン固定組織 (1cm 各程度、肉眼的に質の異なった場所 1 個以上)
- 2) パラフィン包埋ブロック
- 3) 新鮮手術材料 (無菌的に培養液に入れたもの。4 $^{\circ}\text{C}$ )
- 4) 捺印標本 (腫瘍組織をスライドグラスに軽く捺印し、風乾後未固定、室温のものを送付)

**(2) 附随研究用に提出すべき検体**

別途、「付表 8. 附随研究プロトコール」に記載された手順に従って採取された検体を送付する。臨床試験に登録された患者検体のみを対象とするので、検体容器には登録施設名と症例登録番号を記載する。