

先端的 TR 研究に対応する臨床検体の取り扱い指針

国立研究開発法人

国立がん研究センター

先端医療開発センター

先端的 TR 研究に対応する臨床検体の取り扱い指針 序文

近年、ヒト組織を用いたトランスレーショナルリサーチ (TR)研究の重要性が増している。ヒト固形腫瘍における TR 研究は癌のゲノム、エピゲノム、分子発現のみならず、近年においては癌微小環境に含まれる免疫細胞や血管構成細胞、線維芽細胞なども研究対象となっている。さらに、バイオマーカー検索においては患者由来の血液のみならず、便、尿、体腔液等も対象とした患者に優しい新規医療技術開発も推進されている。

一方で、腫瘍間、腫瘍内で多様性を有するヒト固形腫瘍を研究するにあたって、検体採取から固定を含む検体処理の過程が施設間で標準化されておらず、複数施設から一致しない結果が報告された場合、何に起因する不一致であるか想定が困難であった。そのため、日本病理学会を中心としてゲノム研究用病理組織検体取扱規程が策定され、主に外科的に切除された病理組織検体からゲノム研究を行う検体の収集・保管の方法が定められた。今後はより質の高い病理組織検体がバイオバンク等で収集可能になったと考えられる。一方、近年の解析手法の急速な進歩を考慮すると先端的 TR 研究に対応するには 外科切除材料由来の凍結検体を利用したゲノム解析以外の解析手法においても、解析手法に適し、かつ標準化された検体の採取、収集、保管法が必要であり、さらに生検検体や血液検体においても検体の採取、収集、保管法等の標準化が必要である。今回、国立がん研究センターは、国立がん研究センター研究開発費 (26-A-19)の一環として、施設内における、高品質で、標準的な新鮮検体、生検検体及び血液検体を用いた先端的 TR 研究を安全に遂行することを可能とする目的で【先端的 TR 研究に対応する臨床検体の取り扱い指針】を定める。

本指針は人を対象とする医学系研究に関する倫理指針、及びヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に沿い、一般社団法人日本病理学会のゲノム研究用病理組織検体取扱規程や国立感染症研究所病原体等安全規定に準拠した形で、外科切除材料の余剰検体を凍結する以外の採取法と評価項目における、採取、収集、保管法の標準化を目指した。

本指針は、TR 研究に関わる全ての関係者が臨床検体の取扱いを理解していただき、ヒト由来検体を用いた TR 研究が適切に実施されるために活用していただくと幸いである。

平成 29 年 3 月 30 日

国立がん研究センター 先端医療開発センター
センター長 落合 淳志
臨床腫瘍病理分野 ユニット長 小嶋 基寛

先端的 TR 研究に対応する臨床検体の取り扱い指針 作成委員会

委員長 落合 淳志
作成委員 桑田 健
作成委員 吉川 聡明
作成委員 鈴木 利宙
作成委員 永妻 晶子

作成委員 小嶋 基寛
作成委員 光永 修一
作成委員 下村 真奈美
作成委員 山内 稚佐子

新鮮血液検体に関する指針

吉川 聡明
下村 真奈美
鈴木 利宙
山内 稚佐子

新鮮組織検体に関する指針

吉川 聡明
下村 真奈美
鈴木 利宙

生検検体に関する指針

小嶋 基寛
桑田 健
光永 修一
永妻 晶子

内部評価者

加藤 健
吉野 孝之

目次

序文	2
指針総説	5
1. 目的	5
2. 検体採取の基本原則	5
3. 検体採取時、収集時に収集しておくべき情報	5
4. 採取から保管までの運用	6
5. 組織採取後の取扱い、廃棄	6
6. 検体の移送	6
附表-1	7
各論	
第一章 新鮮血液検体に関する取り扱い指針	8
1. 検体採取の基本原則	8
2. 検体採取時、収集時に収集しておくべき情報	8
3. 採取から保管までの運用	8
4. 検体採取後の取扱い、廃棄	10
5. 検体の移送	11
第二章 新鮮組織検体に関する取り扱い指針	12
1. 検体採取の基本原則	12
2. 検体採取時、収集時に収集しておくべき情報	12
3. 採取から保管までの運用	12
4. 組織採取後の取扱い、廃棄	14
5. 検体の移送	14
第三章 ホルマリン固定後、生検検体に関する取り扱い指針	16
1. 検体採取の基本原則	16
2. 検体採取時、収集時に収集しておくべき情報	16
3. 採取から保管までの運用	16
4. 検体採取後の取扱い、廃棄	18
5. 検体の移送	18

指針総論

1. 目的

ヒト由来検体を用いた TR 研究の臨床取り扱いを定めることで、国立がん研究センターの研究に関わる全ての者が、適正かつ質の高い解析情報を一定の規則に沿い、安全に提供することに寄与することを目的とする。

2. 検体採取の基本原則

【対象】本指針で対象とする研究用検体は新鮮腫瘍組織検体、ホルマリン固定後検体及びがん患者由来血液検体であり、解析の対象は蛋白, DNA, RNA に加えて、分離培養や生細胞の解析に対応できるものとする。いずれの解析においても質と再現性の高い検体を採取するためには、適正な部位から、適切な採取法を用いて検体を採取する必要があり、事前に確認事項を決めておく必要がある（確認事項のチェックリスト 附表-1）。

【原則】TR 研究に関わる医療従事者は、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針（平成 26 年文部科学省・厚生労働省）¹及びヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成 26 年文部科学省・厚生労働省・経済産業省）²に従い、適正な倫理審査委員会の審査及び研究機関の長の許可を受けた研究計画書に沿い、可及的にゲノム研究用病理組織検体取扱規程に沿った形で、採取部位から適切な採取・保管・廃棄・移送を行う。外科切除検体同様、生検検体、新鮮組織検体、血液検体を使用する場合も、診断や治療に必要な検体を十分に確保した後、必要最小限の量を用いて研究を行う。

【倫理】研究用に追加で生検、血液等の新鮮組織を採取する場合は、侵襲を伴う研究として倫理審査委員会に諮った後、インフォームドコンセントを得て行う。既存検体を用いた研究は人を対象とする医学系研究に関する倫理指針に従い、研究計画書類を作成し実施する。

【臨床病理情報】疾患及びその治療に関わる血液、生化学的情報は研究計画書類に記載し、それに従って決められた時期に収集する。また、生検検体、新鮮検体を用いる場合、別検体もしくは、検体の一部で病理組織を確認することにより腫瘍組織が十分に採取されていることが確認されることが望ましい。

血液検体を用いる場合、病巣の病理学的な確定診断がついていることが望ましい。

3. 検体採取時、収集時に収集しておくべき情報

【目的】研究に関わる全ての人が検体の採取、収集される目的と時期を理解しておく。解

析手法と検体必要量についても把握し、検体必要量の多い場合は研究用に複数の検体を採取することを決めておくことが望ましい。生検検体、血液検体に関しては一人の対象に対して複数回採取されることがあり、採取される時期とその目的を把握する。

【臨床情報】 検体採取前後の画像診断や検査結果の確認、カンファレンスなどへの参加により、患者情報収集に努める。

【感染症】 感染症を念頭におき、研究計画を立てる。いずれの検体においても、各施設の院内感染対策指針に従い、感染症の有無を確認し、微生物汚染経路遮断を行い、医療関連感染対策を行うことで、バイオハザードの問題が生じないよう注意を払う。予防接種が可能な感染性疾患に対しては、接種率を高めることで防御策を施行する。

4. 採取から保管までの運用

研究者の使用する検体の種類と解析対象に適し、かつ科学的に妥当で、バイオセーフティーを満たし、倫理指針に沿った、検体の採取から保管までの取扱いが望ましい。検体採取から保管までの、どの過程で、誰が、どこで、どのような形で検体に関わるか、手順をあらかじめ決めておく必要がある。

5. 組織採取後の取扱い、廃棄

・DNA, RNA, 蛋白発現に使用した外科切除材料、及び生検由来組織に関してはゲノム研究用病理組織検体取扱規程(一般社団法人日本病理学会)³に従い、病理診断に支障がないよう検体を取り扱う。

・新鮮組織検体及び血液検体に関しては、使用後検体の取扱いをあらかじめ定め、適切な場所で適切な方法を用いてあらかじめ決められた期間保存した後に医療廃棄物として廃棄する。廃棄する際にも情報が匿名化されるよう注意する。

6. 検体の移送

移送時に記載する申込書、受け取り確認書、手順書を作成することで、検体のコンタミネーションや紛失を防ぐ必要がある。

バイオセーフティーを考慮し、物質への暴露による生物由来物質カテゴリーB(健康なヒトまたは動物に恒久的な障害や、生命を脅かすような、あるいは致死的な疾病を、引き起こす可能性のある状態で輸送される感染性物質 [カテゴリーA] ではないヒト由来試料)を航空機により輸送しようとする場合は、航空機による爆発物の輸送基準などを定める告示(国土交通省)⁴の定める3重包装容器を用いなければならない。

(附表- 1)

確認事項チェックリスト (Biospecimen Reporting for Improved Study Quality (BRISQ を
改編) Cancer Cytopathology 119,pp.92-102:2011)⁵

項目	例
検体の質	組織検体、血液検体、体液等
採取部位	採取臓器(肝臓等)、採血部位(前腕等)
患者の病状	比較対象であるか、対象疾患患者であるか
臨床診断	閉経前乳がん患者等
病理診断	Her2-陰性乳管癌等
採取法	穿刺吸引、採血等
採取時の対応	氷上等
長期保存法	ホルマリン固定、凍結等
固定液の質	10%中性緩衝ホルマリン等
保存温度	-80℃等
保存日、解析日	
移送時の温度	-80℃等
質の評価と選択	壊死が 50%未満等

各論

第一章 新鮮血液検体に関する取り扱い指針

1. 検体採取の基本原則

本章では、国立がん研究センターにおける、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針に基づき実施される新鮮血液検体を用いた TR 研究に関して、倫理委員会において承認を受けた研究を円滑かつ安全に遂行することを目的とし、規程に基づいて人体から取得された検体を取り扱う指針を定める。研究に関わる全ての者は、各実施機関で開催される「研究倫理等に関する講習会」に参加し、上記の指針を熟知した上で研究を行う必要がある。研究責任者は、倫理面、個人情報の保護ならびに安全性に配慮する責務を負う。また、研究に関わる者には医療職以外の者が含まれることを考慮の上、そのバイオセーフティーについては特に配慮する必要がある。研究の解析に用いる血液成分（全血、血清、血漿、末梢血単核球）と解析対象（蛋白、DNA、RNA、細胞機能）は研究計画段階で決めておき、それぞれに沿った、採取、検体処理、移送と保管を行う。ヒトゲノム情報を対象とする研究においては、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に則り、研究を行う必要がある。

2. 検体採取時、収集時に収集しておくべき情報研究に関わる者は、検体採取時、収集の際は、あらかじめ、研究の名称、研究目的、対象疾患を把握する。また、研究ごとの手順書に従い、登録番号、採血ポイント、採血日等を記録する。また研究対象者の病名及び感染症の有無を確認し、バイオセーフティーの確保に努める。新鮮血液検体を用いる研究対象癌患者は、病理組織学的に証明されていることが望ましい。

3. 採取から保管までの運用

（1）採取の準備

① 採取から保管、廃棄までの運用を研究計画書及び手順書であらかじめ決めておく。血液検体は時を決めて複数回採取されることがあるため、採血する時期と場所を研究計画書であらかじめ定め、採血の担当者、検体の処理、移送に関わる者に連絡する。

② 採取者ならびに実験者は、ヒト由来の検体が感染の危険性を持つことを認識し、ゴム手袋、マスク等を着用しその防護に努める。 検体採取及び検体最首あとの処理におけるゴム手袋の着用は必須である。

注射針の取り扱いについては特に留意し、誤刺を避けるために使用済みの注射針は再度、キャップをせずにそのまま密閉できる容器に回収し、医療廃棄物として廃棄する。

※誤刺等の感染の危険性を伴う事故が発生した場合には各施設の規定に従い、流水で十分

に創傷部を洗浄した後、消毒を行う。⁶また、立会の医師がその必要があると判断した場合には、指定の病院にて血液検査を行い、ワクチン接種等の処置を行う。

※以下に記載する病原性微生物について、感染の疑いがあるサンプルについては取り扱い前に病原性微生物の有無を検査する。また、検体取扱者に感染が疑われる事故があった場合には病原体ごとに決められた検査を速やかに行う。ヒト肝炎ウイルスについては、健常人でも潜伏感染している可能性があることを熟知し、ヒト材料の研究に携わる研究者ならびに実験者については、感染時期を特定する目的で実験を開始する前にあらかじめ病原性微生物への感染の有無や交代保有の有無について検査を受けておくことが望ましい。各検査は、健康福祉センターで無料検査が可能である。

ヒト肝炎ウイルス感染検査施設サイト⁷：<http://www.kanen.ncgm.go.jp/kan-en/>

ヒト免疫不全ウイルス感染検査施設サイト⁸：<http://www.hivkensa.com/>

検査が要求される病原性微生物

ヒト肝炎ウイルス（HBs、HCV）、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）

（2） 検体の採取同意取得後、研究計画書にあらかじめ定めた方法により採血量を採血ポイントに採取する。ただし年齢や貧血の状態などの有害事象により担当医師が採血を不適切と判断した場合、もしくは、被験者が採血について拒否した場合は採血を中止する。静脈採血は腕から直接、末梢採血ルートもしくは中心静脈カテーテル（左右は問わない）から採血をする。ルート採血の際は、十分に血液を逆流させた後に行う。採血管ラベルには、実施試験名、登録番号、採血日等を記載する。採血時は溶血を最小限にとどめるよう努める。

※各試験のプロトコールに従い、「血液検体 提出・受領書」等の記録を作成することが望ましい。その際は必要事項が記載されていることを確認し、連絡後速やかに、検体と「血液検体 提出・受領書」を検体処理担当者へ提出する。

検体処理担当者は、検体受領後、「血液検体 提出・受領書」等をもとに検体を確認するとともに、検体の保存状態、破損について問題の有無を確認した後、必要に応じて検体提出者に問い合わせをする。受領した検体に問題が無ければ、受領書に必要事項を記載し、採血実施機関の担当者および研究事務局等へ写しを送付する。原本は検体受領機関にて保管する。なお、受領した検体に重大な問題がある場合は、採血実施機関の担当者、研究事務局等へ連絡し、協議の上対応する。

(3) 検体の処理

全工程無菌的に行い（試薬類や容器、器具も滅菌されたものを使用する）、試薬類は室温に戻してから使用することが望ましい。また混和に当たってはゆっくり転倒し行う。

血清、血漿に関しては、採血を実施後、採血管を静かに転倒混和し、室温（18-25℃）で30分程度静置してから速やかに分離を行うことが望ましい。遠心力、約1500gで10-15分間遠心し、上清を分離する。遠心時の温度は通常15℃-24℃で行う。検査項目が熱に不安定な場合は遠心冷却を行うが、過度の冷却は赤血球からKの漏出を促し、血清中のカリウム濃度が上昇するので注意が必要である。

末梢血単核球(PBMC)分離等の方法は、各試験のプロトコールに従って行う。

(4) 検体の保管

血清、血漿に関しては遠心分離後、上清を別容器に移し替えた後、冷蔵保存（2-8℃）する。採取後4日以後に測定する場合は遠心分離後、上清を別容器に移し替え、短期間の保存は冷蔵、長期間の保存は冷凍保存（-80℃）する。

分離したPBMCを保管する際には、各試験のプロトコールで定められた保存液にPBMCを懸濁し、あらかじめ4℃で冷却したBICELL等を使用し、-70℃以下の超低温フリーザーに静置保管し徐々に凍結することが望ましい。24時間後から4日以内に（作業が週末等の休前日であった場合は休日明けに）、検体を液体窒素タンクに移し保管することが望ましい。その際は液体窒素残量に充分注意し、必要に応じて液体窒素を補充する。

(5) 廃液の処理

検体処理で出た廃液については、各実施機関の定める規則に従い、オートクレーブやブリーチで消毒等を行った上、大量の水で希釈し廃棄する。検体処理に使用した試薬類や容器、器具等についても、各実施機関の定める規則に従い、医療廃棄物として適切に処理を行う。

4. 検体採取後の取扱い、廃棄

(1) 採取した検体は、検体処理を行った機関の研究責任者が管理し、各試験のプロトコールに定められた期間適切に保管する。また、試験に関するすべての資料（以下に示す）についても、プロトコールに定められた期間適切に管理し保管する。適切に保管できていることを定期的に確認し、廃棄するまで記録を残すこととする。

(2) 廃棄する場合には、研究代表者の許可後、速やかに行い、血液検体に関しては、使用后検体の取扱をあらかじめ定め、適切な場所で適切な方法を用いてあらかじめ決められた期

間保存した後に医療廃棄物として廃棄する。検体に付随する匿名化された番号などすべてのデータが再現・再利用不可能となる方法で廃棄を行う。

※保管する資料

試験計画書

被験試料に関する記録

試薬等の調製記録

使用機器に関する記録

連絡記録

逸脱記録

送付記録

返送記録、その他

5. 検体の移送

採血実施機関と検体処理機関が異なる場合においては、各試験のプロトコールで定められた方法で輸送を行う。凍結された、血清、血漿の場合は、専門業者に委託するか、ドライアイス充填発泡スチロール容器を用いて移送する。PBMC を輸送する際の温度は、4-28℃の範囲で、各試験のプロトコールで定められた温度で輸送する。航空機による移送は、航空機による爆発物の輸送基準などを定める告知(国土交通省)に従い、3重包装容器を用いる。

4

※移送時には、「検体送付書/受領書」等に必要事項（試験名、登録番号、採血日時、採血ポイント、採血管の数量）が全て記載されていることを確認のうえ、採取した検体一式を梱包し、速やかに、検体送付先担当者へ提出することが望ましい。検体送付先担当者は、検体受領後、「検体送付書/受領書」等をもとに検体数を確認するとともに、検体の保存状態、破損について問題の有無を確認した後、必要に応じて検体送付配送者に問い合わせをする。検体送付先の担当者は、受領した検体に問題が無ければ、受領書に必要事項を記載し、採血実施機関の担当者および研究事務局等へ写しを送付する。原本は検体受領機関にて保管する。なお、受領した検体に重大な問題がある場合は、採血実施機関の担当者、研究事務局等へ連絡し、協議の上対応する。

第二章 新鮮組織検体に関する取り扱い指針

1. 検体採取の基本原則

本章では、国立がん研究センターにおける、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針に基づき実施される新鮮組織検体を用いる TR 研究に関して、倫理委員会において承認を受けた研究を円滑かつ安全に遂行することを目的とし、規程に基づいた人体から取得された検体の取り扱いに関して指針を定める。研究に関わる全ての者は、各実施機関で開催される「研究倫理等に関する講習会」に参加し、上記の指針を熟知した上で研究を行う必要がある。研究責任者は、倫理面、個人情報の保護ならびに安全性に配慮する責務を負う。また、研究に関わる者には医療職以外の者が含まれることを考慮の上、そのバイオセーフティーについては特に配慮する必要がある。研究の解析に用いる検体の種類（手術材料もしくは、生検材料）及び解析対象（蛋白、DNA、RNA、細胞分散を用いた研究）は研究計画段階で決めておき、それぞれに沿った、移送と保管を行う。比較対象として正常組織を採取する場合も研究計画段階で決めておく。手術検体で DNA、RNA、タンパク質の解析を行う場合は、ゲノム研究用病理組織検体取扱規程に準拠して検体の取扱いを行う。研究用で新たに生検新鮮組織を採取する場合は、侵襲を伴う研究として倫理審査委員会に諮った後、インフォームドコンセントを得て行う。研究責任者は重篤な有害事象の発生を知った場合は、速やかに必要な措置を講じなくてはならない。手術材料の余剰既存検体を用いた研究は人を対象とする医学系研究に関する倫理指針に従い、研究計画書類を作成し倫理審査を受けた後、計画書に沿って実施する。ヒトゲノム情報を対象とする研究においては、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に則り、研究を行う必要がある。³

2. 検体採取時、収集時に収集しておくべき情報 検体採取時、収集の際は、あらかじめ、研究の名称、研究目的、対象疾患を把握する。また、研究ごとの手順書に従い、登録番号、検体採取部位、検体採取日等を記録する。また研究対象者の病名及び感染症の有無を確認し、研究者や病院内のバイオセーフティー確保に努める。生検検体を用いる場合、別検体もしくは、採取した検体の一部をホルマリン固定し組織診断と、腫瘍組織が十分に採取されていることを確認することが望ましい。

3. 採取から保管までの運用

(1) 採取の準備

① 採取から保管、廃棄までの運用を研究計画書及び手順書であらかじめ決めておく。生検検体は経時的に複数回採取されることがあるため、検査する時期と場所を研究計画書であらかじめ定め、生検の担当医、検体の処理、移送に関わる者に連絡する。

② 採取者ならびに実験者は、ヒト由来の検体が感染の危険性を持つことを認識し、ゴム手袋、マスク等を着用しその防護に努める。

(2) 検体の採取① 生検凍結検体を用いた蛋白、RNA 発現を検討するためにはある程度の組織量が必要とされる。有害事象に十分な注意を払って適切な量の組織を採取する。

② 細胞の分離を行う場合も必要な採取量をある程度決めておくことが望ましい。

(3) 検体の処理組織採取担当者は、各試験のプロトコールに従い、組織採取後速やかに検体を処理する。細胞の分離を行う場合は、生理食塩水等を入れた清潔な検体容器へ検体を入れ、氷温下にて検体容器を管理する。蛋白、DNA、RNA の発現解析を行う場合、液体窒素等で速やかに組織を凍結し、提出することが望ましい。検体容器ラベルには、実施試験名、登録番号、採取日等を記載する。

※各試験のプロトコールに従い、「組織検体 提出・受領書」等の記録を作成することが望ましい。その際は必要事項が記載されていることを確認し、連絡後速やかに、検体と「組織検体 提出・受領書」を検体処理担当者へ持参する。

検体処理担当者は、検体受領後、「組織検体 提出・受領書」等をもとに検体を確認するとともに、検体の保存状態、破損について問題の有無を確認した後、必要に応じて検体提出者に問い合わせをする。受領した検体に問題が無ければ、受領書に必要事項を記載し、組織採取実施機関の担当者および研究事務局等へ写しを送付する。原本は検体受領機関にて保管する。なお、受領した検体に重大な問題がある場合は、組織採取実施機関の担当者、研究事務局等へ連絡し、協議の上対応する。

全工程無菌的に行い（試薬類や容器、器具も滅菌されたものを使用する）、試薬類は定められた温度を維持して使用することが望ましい。また混和に当たってはゆっくり転倒し行う。組織検体の分散処理時も、氷を敷き詰めたバットや保冷材等の上で処理し、常に氷温下で行うことが望ましい。

組織検体の細胞分離等の方法は、各試験のプロトコールに従って行う。

(4) 検体の保管

組織検体の一部を保管する際には、各試験のプロトコールに従い、蛋白、DNA、RNA 抽出や細胞分離に適した方法で保管を行う。組織検体から分離した細胞を保管する際には、各試験のプロトコールで定められた保存液に細胞を懸濁し、あらかじめ 4℃で冷却した BICELL 等を使用し、-70℃以下の超低温フリーザーに静置保管し徐々に凍結することが望ましい。24 時間後から 4 日以内に（作業が週末等の休前日であった場合は休日明けに）、検体を液体窒素タンクに移し保管することが望ましい。その際は液体窒素残量に充分注意し、必要に

応じて液体窒素を補充する。

(5) 廃液の処理

検体処理で出た廃液については、各実施機関の定める規則に従い、オートクレーブやブリーチで消毒等を行った上、大量の水で希釈し廃棄する。検体処理に使用した試薬類や容器、器具等についても、各実施機関の定める規則に従い、医療廃棄物として適切に処理を行う。

4. 組織採取後の取扱い、廃棄

採取した検体は、検体処理を行った機関の研究責任者が管理し、各試験のプロトコールに定められた期間適切に保管する。また、試験に関するすべての資料（以下に示す）についても、プロトコールに定められた期間適切に管理し保管する。適切に保管できていることを定期的に確認し、廃棄するまで記録を残すこととする。

組織検体及は、使用后検体の取扱をあらかじめ定め、適切な場所で適切な方法を用いてあらかじめ決められた期間保存した後に医療廃棄物として廃棄する。廃棄する場合には、研究代表者の許可後、速やかに行い、検体およびそれに付随する匿名化された番号などすべてのデータが再現・再利用不可能となる方法で廃棄を行う。

※保管する資料

試験計画書

被験試料に関する記録

試薬等の調製記録

使用機器に関する記録

連絡記録

逸脱記録

送付記録

返送記録、その他

5. 検体の移送

検体処理機関と解析機関が異なる場合においては、各試験のプロトコールで定められた方法で保管した検体の移送を行う。移送時の温度は、各試験のプロトコールで定められた温度で輸送する。

※移送時には、「検体送付書/受領書」等に必要事項（試験名、登録番号、採取日時、採取ポイント、検体の数量）が全て記載されていることを確認のうえ、採取した検体一式を梱包し、速やかに、検体送付先担当者へ提出することが望ましい。検体送付先担当者は、検体

受領後、「検体送付書/受領書」等をもとに検体を確認するとともに、検体の保存状態、破損について問題の有無を確認した後、必要に応じて検体送付配送者に電話で問い合わせをする。検体送付先の担当者は、受領した検体に問題が無ければ、受領書に必要事項を記載し、送付機関の担当者および研究事務局等へ写しを送付する。原本は検体受領機関にて保管する。なお、受領した検体に重大な問題がある場合は、送付機関の担当者、研究事務局等へ連絡し、協議の上対応する。

第三章 ホルマリン固定後、生検検体に関する取扱指針

1. 検体採取の基本原則

本章では、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針に基づき実施される、ホルマリン固定後の生検組織検体を用いる TR 研究に関して、倫理委員会において承認を受けた研究を円滑かつ安全に遂行することを目的とし、規程に基づいた人体から取得されたホルマリン固定後、生検検体の取り扱いに関して指針を定める。研究に関わる全ての者は、各実施機関で開催される「研究倫理等に関する講習会」に参加し、上記の指針を熟知した上で研究を行う必要がある。研究責任者は、倫理面、個人情報保護ならびに安全性に配慮する責務を負う。ヒトゲノム情報を対象とする研究においては、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に則り、研究を行う必要がある。³また、研究に関わる者には医療職以外の者が含まれることを考慮の上、バイオセーフティーについては特に配慮する必要がある。固定後の生検検体で解析する対象（蛋白、DNA、RNA）により適正な検体処理、移送と保管を行う。比較対象として正常組織を使用する場合も研究計画段階で決めておく。生検検体を用いて行う研究は、研究用に追加で生検組織を採取する場合と既存検体を用いて検討する場合がある。研究用に追加で生検組織を採取する場合は、侵襲を伴う研究として倫理審査委員会に諮った後、インフォームドコンセントを得て行う。研究責任者は重篤な有害事象の発生を知った場合は、速やかに必要な措置を講じなくてはならない。手術材料の余剰既存検体を用いた研究は人を対象とする医学系研究に関する倫理指針に従い、研究計画書類を作成し倫理審査を受けた後、計画書に沿って実施する。

2. 検体採取時、収集時に収集しておくべき情報

検体採取時、収集の際は、あらかじめ、研究の名称、研究目的、対象疾患を把握する。また、研究ごとの手順書に従い、登録番号、薄切日時を記録する。また研究対象者の病名及び感染症の有無を確認し、微生物汚染経路遮断を行い、医療関連感染対策を行うことで、研究者や病理検査室内のバイオセーフティー確保に努める。解析用の検体を新たに採取する場合、検体の一部をホルマリン固定し病理組織を確認することにより組織診断と、腫瘍組織が十分に採取されていることが確認されることが望ましい。

3. 採取から保管までの運用

(1) 採取の準備

- ① 研究用に追加で生検組織を採取する場合、採取から解析、保管、廃棄までの運用を研究計画書及び手順書に定め、その記載に従う。保存検体を用いる場合も解析、保管までの運用を手順書に定めておく。
- ② 採取者ならびに実験者は、ヒト由来の検体が感染の危険性を持つことを認識し、ゴム手袋、マスク等を着用しその防護に努める。

※誤刺等の感染の危険性を伴う事故が発生した場合には各施設の規定に従い、流水で十分に創傷部を洗浄する。また、医師がその必要があると判断した場合には、指定の病院にて血液検査を行い、ワクチン接種等の処置を行う。

※以下に記載する病原性微生物について、感染の疑いがあるサンプルについては取り扱い前に病原性微生物の有無を検査する。また、検体取扱者に感染が疑われる事故があった場合には病原体ごとに決められた検査を速やかに行う。ヒト肝炎ウイルスについては、健常人でも潜伏感染している可能性があることを熟知し、ヒト材料の研究に携わる研究者ならびに実験者については、感染時期を特定する目的で実験を開始する前にあらかじめ病原性微生物への感染の有無や交代保有の有無について検査を受けておくことが望ましい。各検査は、健康福祉センターで無料検査が可能である。

ヒト肝炎ウイルス感染検査施設サイト 7 : <http://kensa.kan-en.net/about/>

ヒト免疫不全ウイルス感染検査施設サイト 8 : <http://www.hivkensa.com/>

検査が要求される病原性微生物

ヒト肝炎ウイルス (HBs、HCV)、ヒト免疫不全ウイルス (HIV)

(2) **検体の処理** 研究用に追加で生検組織を採取した場合、採取した検体は可及的速やかに 10-20% 中性緩衝ホルマリンに浸透させる。ホルマリンの pH はゲノム DNA の増幅や蛋白発現の検討に影響を与えるため、中性緩衝ホルマリンの使用は強く推奨される。ホルマリン固定後の組織から RNA を解析する場合は核酸庇護剤を使用することが望ましい。固定時間は 24 時間程度が望ましく、2 日以上固定はゲノム DNA の増幅や蛋白発現の検討に影響を与える。固定の後にパラフィンに包埋し、検体を保管、解析する。

(3) **検体の保管** 研究用に追加で生検組織を採取した場合の検体の保管は各試験のプロトコールに従って行う。常温で保管が可能であるが、極端な高温や多湿、直射日光を避けるべきである。解析までの検体の保管期間は短いことが望ましく、3 年以上経過した検体はゲノム DNA の増幅が低下する。¹⁰

4. 検体採取後の取扱い、廃棄

採取した検体は、検体処理を行った機関の研究責任者が管理し、各試験のプロトコールに定められた期間適切に保管する。また、試験に関するすべての資料 (以下に示す) についても、プロトコールに定められた期間適切に管理し保管する。適切に保管できていることを定期的に確認し、廃棄するまで記録を残すこととする。

廃棄する場合には、研究代表者の許可後、速やかに行い、検体およびそれに付随する匿名

化された番号などすべてのデータが再現・再利用不可能となる方法で廃棄を行う。研究用に追加で生検組織を採取した場合の検体は各試験のプロトコルに従い、研究終了後に破棄する。破棄する際は、各実施機関の定める規則に従い、医療廃棄物として適切に処理を行う。

※保管する資料

試験計画書

被験試料に関する記録

試薬等の調製記録

使用機器に関する記録

連絡記録

逸脱記録

送付記録

返送記録、その他

5. 検体の移送

検体採取機関と検体処理機関が異なる場合においては、各試験のプロトコルで定められた手順で移送を行う。ホルマリン固定、パラフィン包埋後の検体は、パラフィンブロック、未染色標本、スライド切片をチューブにいった形で輸送することができる。専門業者に委託するか、常温で移送する。

※輸送時には、「検体送付書/受領書」等に必要事項（試験名、登録番号、採取日時、採取ポイント、検体の数量）が全て記載されていることを確認のうえ、採取した検体一式を梱包し、速やかに、検体送付先担当者へ提出することが望ましい。検体送付先担当者は、検体受領後、「検体送付書/受領書」等をもとに検体を確認するとともに、検体の保存状態、破損について問題の有無を確認した後、必要に応じて検体送付配送者に電話で問い合わせをする。検体送付先の担当者は、受領した検体に問題が無ければ、受領書に必要事項を記載し、送付機関の担当者および研究事務局等へ写しを送付する。原本は検体受領機関にて保管する。なお、受領した検体に重大な問題がある場合は、送付機関の担当者、研究事務局等へ連絡し、協議の上対応する。

引用文献

- 1: 人を対象とする医学系研究に関する倫理指針（平成 26 年文部科学省・厚生労働省）
<http://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-10600000-Daijinkanboukouseikagakuka/000069410.pdf>（平成 26 年 11 月 25 日）
- 2: ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成 26 年文部科学省・厚生労働省・経済産業省）
<http://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-10600000-Daijinkanboukouseikagakuka/sisin1.pdf>（平成 26 年 11 月 25 日）
- 3: ゲノム研究用病理組織検体取扱規程（一般社団法人日本病理学会）
- 4: 航空機による爆発物の輸送基準などを定める告示（国土交通省）
<http://www.ktr.mlit.go.jp/notice/pdf/200901/00005002.pdf>（平成 26 年 11 月 25 日）
- 5: Moore HM, et al. Biospecimen reporting for improved study quality (BRISQ). *Cancer Cytopathol.* 2011 Apr 25;119(2):92-101.
- 6: 血液・体液暴露事故（針刺し事故）発生時の対応（エイズ治療・研究センター）
<http://www.acc.ncgm.go.jp/doctor/000/020/eventSupport.html>（平成 26 年 11 月 25 日）
- 7: ヒト肝炎ウイルス感染検査施設サイト 7: <http://www.kanen.ncgm.go.jp/kan-en/>（平成 26 年 11 月 25 日）
- 8: ヒト免疫不全ウイルス感染検査施設サイト 8: <http://www.hivkensa.com/>（平成 26 年 11 月 25 日）
- 9: Sato M, et al. Optimal fixation for total preanalytic phase evaluation in pathology laboratories: a comprehensive study including immunohistochemistry, DNA, and mRNA assays. *Pathol Int.* 2014 May;64(5):209-16.
10. パラフィンブロックの長期保存と採取試料の固定までの時間が与える Ki-67 免疫染色、DNA と RNA への影響. *診断病理* 33 巻 1 号 43-60.2016.