

K-Panel コンサルテーションプロトコール(病理医用)

【概要】

1. **実施施設** 鹿児島大学・医歯学総合研究科・病理学分野（責任者 谷本昭英）
2. **目的** WHO 分類改訂第5版に準拠した脳神経膠腫の統合分子病理診断のコンサルテーション
3. **特徴** 鹿児島大学で独自に開発され、脳神経膠腫に特化したカスタムパネルによるゲノム検査です。
九州大学、産業医科大学、鳥取大学、広島大学、新潟大学などが参加する臨床研究では、約 800 症例以上の解析実績があります（令和6年10月時点）。
4. **対象** びまん性神経膠腫など K-Panel で診断可能な脳腫瘍（検査手順の項目 8 参照）
5. **対象外** 髄膜腫、髄芽腫、下垂体部腫瘍、松果体部腫瘍、転移性脳腫瘍、悪性リンパ腫、神経鞘腫
6. **検査の構成**
 - ・Qiagen 社 QiaSeq Multimodal Panel によるパネル設計
 - ・Illumina 社 NextSeq1000 を用いた targeted amplicon sequence
 - ・三菱電機ソフトウェア社による自動解析
7. **費用** 病理組織検査： ￥ 9,680(消費税込み)/コンサルテーション
ゲノム検査： ￥ 42,895(消費税込み)/検体
(鹿児島大学医歯学総合研究科病理組織検査規則に基づく)
8. **受付および材料の送付先**
 - ・鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科・病理学分野（担当 赤羽俊章）
 - ・〒890-0075 鹿児島県鹿児島市桜ヶ丘8丁目35-1
 - ・TEL:099-275-5263 FAX:099-264-4268 Email:t-akah@m.kufm.kagoshima-u.ac.jp
9. **検査に要する時間** 約2～6週間を目途としてください。
10. **検査実施場所** 鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科・病理学分野
11. **倫理審査**

診療に関わるコンサルテーションであり、鹿児島大学での臨床研究倫理審査(IRB)は必要ありません。臨床研究とする場合は、依頼施設と鹿児島大学の双方で IRB が必要です(症例報告は除く)。コンサルテーションの場合でも、依頼側施設の規則によっては、検査同意書に加えて倫理審査などの手続きが必要な場合もありますので、ご確認をお願い致します。
12. **検査結果の公開** 学会報告や症例報告の際は、あらかじめご相談ください。

【検査の手順】

1. 検査に際して送付いただくもの

- 1-1. 依頼施設担当者(病理医)の所属・氏名、レポートの送付先、経理担当などが記入された所定の申し込み用紙(所定用紙 1)
- 1-2. 依頼施設での病理診断報告書の写しおよび臨床情報および画像情報(所定用紙 2)
- 1-3. ホルマリン固定パラフィン包埋組織の未染色切片 16 枚(項目 2 および項目 3 を参照してください。)
- 1-4. 宅急便などで「われもの注意」「手渡し」扱いでの送付をお願いします。
- 1-5. 切片はガラススライド専用のハードケースに入れて送付してください。
- 1-6. 送付の費用は依頼施設でのご負担をお願い致します。
- 1-7. 到着後、鹿児島大学・病理学分野から依頼施設の担当者に受領のメールを送付します。

2. 組織の処理でご留意いただくこと

- 2-1. 採取された組織は速やかに 10%中性緩衝ホルマリンで固定してください。
- 2-2. 固定時間は 6 時間以上、48 時間以内にしてください。
- 2-3. 組織量に対して 10 倍量以上の固定液を用いてください。

3. 未染色切片の作製でご留意いただくこと

- 3-1. なるべく腫瘍が多く含まれるブロックを選んで未染色切片を作製してください。
 - ・未染色切片は 16 枚必要です(厚さ 5 μ m、非コーティングスライド)。
 - ・組織の大きさが 5x5mm 以上、腫瘍含有率が 30%以上を目安にしてください。
 - ・腫瘍割合が低い場合コピー数(CDKN2A/B loss など)が正確に検出されません。
- 3-2. スライドガラスには施設名と施設での病理番号を記入してください。
- 3-3. 最後の 1 枚(16 枚目)で HE 標本作製しますので、スライドにマーク(@)を付けてください。
- 3-4. 複数の症例を処理する際にコンタミネーションを起こさないようにお願い致します。
- 3-5. 切片を進展する際、パラフィンが融解しない程度にしてください。
- 3-6. 可能であれば専用のマイクロームで切片を薄切してください。
- 3-7. 切片作成後は速やかに送付してください。切り置きした未染色切片では、解析ができません。

4. 検査方法の概略

- 4-1. 未染色切片 15 枚から DNA と RNA を抽出します。検査に必要な核酸の目安は、DNA, RNA いずれも濃度が 20ng/ μ L、総量は 150ng 以上です。ただし核酸品質によって変動します。
- 4-2. qPCR を用いて Ct 値から高品質核酸の濃度を調べ、品質が基準に満たないものは検査できません。
- 4-3. データは三菱電機ソフトウェア社に送られ、解析とレポートニング作業をおこないます。

5. 検査対象(外)となる材料

- 5-1. ホルマリン固定パラフィン包埋ブロックの作製後、3 年以内の症例
- 5-2. 十分な臨床情報がない症例は検査の対象外となることもあります。
- 5-3. HE 標本の review の結果、検査の対象外となることもあります。

5-4. 抽出核酸の低品質のため検査の対象外となることもあります。

5-5. 凍結組織は検査の対象外です。

6. コンサルテーション結果の返却

6-1. 分子病理専門医が統合分子病理診断を行います。

6-2. 検査結果には WHO 分類に必要な遺伝子変化、推定されるゲノム診断が含まれます。WHO の定義上、ゲノム診断に必要な変異情報などは報告に含まれません。

6-3. 検査レポートを登録された担当者に Email で送付します。

6-4. HE 染色標本は返却いたしません。鹿児島大学が依頼施設の許可なしに学会発表、症例報告および臨床研究に利用することはありません。

7. 検査結果の解釈についての留意点

7-1. 本検査は Laboratory developed test として行われるものであり、保険収載はされていません。

7-2. 最終的な診断、遺伝子変異等の解釈、結果の医療行為への利用などについては、施設の責任で行ってください。

7-3. 検査結果は、解析時点でのデータベースなどに基づいており、後に変更される可能性もあります。

7-4. 施設の病理専門医の責任において、最終的な統合分子病理診断を行ってください。

7-5. 本検査で得られた結果で分子標的薬適応の可否は判定できません。

7-6. 分子標的薬適応の可否は、施設での保険診療によるパネル検査とエキスパートパネル (FoundationOne や Oncoguide など) でご判断ください。

7-7. 本検査に germline の解析は含まれていません。

7-8. 患者への開示は、施設の IRB や規則に従ってください。

7-9. 予期できない原因でゲノム解析が成功しない場合もありますので、あらかじめご了承ください。

7-10. カスタムパネルの内容は予告なく変更されることがあります。

7-11. 融合遺伝子については、偽陰性・偽陽性の可能性もあります。

8. 検査項目

8-1. Mutations/CNVs: *BRAF*, *CDKN2A/B*, *EGFR*, *IDH1/2*, *PTEN*, *MET*, *CDK6*, *H3F3A*, *HIST1H3B/3C*

8-2. *TERT*p mutation

8-3. 1p/19q co-deletion

8-4. Fusion genes:

BCOR	MET	PPARG	ALK
BRAF	MYB	PRKD1	EWSR1
BRD3	MYBL1	PRKD2	FUS
BRD4	NTRK1	PRKD3	SS18
CRTC1	NTRK2	RELA	CIC
EGFR	NTRK3	RET	MYC
ETV6	PAX3	ROS1	RAF1
FGFR1	PAX8	STAT6	
FGFR2	PDGFRA	THADA	
FGFR3	PLAG1	KIT	

9. 検査費用の支払い方法

- 9-1. 毎月末に検査完了書を鹿児島大学の担当事務から、依頼施設の経理担当者にメール致します。
- 9-2. 検査完了のご確認を頂き、間違いなければ請求書を送付します。
- 9-3. 指定口座にコンサルテーション費用の振り込みをして頂きます。

10. 共同開発者

鹿児島大学脳神経外科 比嘉助教、花谷教授
九州大学脳神経外科 吉本教授

11. 参考資料

- ・ゲノム研究用・診療用病理組織検体取り扱い規定(羊土社)
- ・がんゲノム病理学(文光堂)
- ・脳腫瘍のがんゲノム医療-カスタムがん遺伝子パネルによる統合分子診断- 病理と臨床、2023; 41: 153-161
- ・A tailored next-generation sequencing panel identified distinct subtypes of wildtype IDH and TERT promoter glioblastomas. Higa N, Akahane T, Yokoyama S, Yonezawa H, Uchida H, Takajo T, Kirishima M, Hamada T, Matsuo K, Fujio S, Hanada T, Hosoyama H, Yonenaga M, Sakamoto A, Hiraki T, Tanimoto A, Yoshimoto K. *Cancer Sci.* 2020; 111: 3902-3911. doi: 10.1111/cas.14597.
- ・All-in-one bimodal DNA and RNA next-generation sequencing panel for integrative diagnosis of glioma. Higa N, Akahane T, Kirishima M, Yonezawa H, Makino R, Uchida H, Yokoyama S, Takajo T, Otsuji R, Fujioka Y, Sangatsuda Y, Kuga D, Yamahata H, Hata N, Horie N, Kurosaki M, Yamamoto J, Yoshimoto K, Tanimoto A, Hanaya R. *Pathol Res Pract.* 2024; 263: 155598. doi: 10.1016/j.prp.2024.155598.