

**特集：最先端医療を支える病理学**

## 医療を支える病理診断

## —第260回徳島医学会学術集会市民公開シンポジウムより—

坂東良美

徳島大学病院病理部

(令和2年3月16日受付) (令和2年3月30日受理)

## はじめに

患者さんが病院に来院されて適切な治療を受けるためには病気に対する診断が必要になる。患者さんの体より採取された病変部の組織や細胞から顕微鏡用のガラス標本がつくられ、この標本を顕微鏡で観察して診断するのが病理診断である。病理診断は主治医に報告され、治療に生かされる。

特に、近年急速に進んでいるがん治療の個別化に病理診断で得られた情報が役に立っている。治療によってどのくらいの効果があったかも病理組織学的に判定される。また、病理診断のために採取された検体を用いてゲノム医療に必要な検査が行われることから、品質の高い検体を作製することや、検査に最適な検体を選択することも病理部門の業務として重要になっている。医療の質を支える「縁の下の力持ち」としての病理診断について概説する。

## 1. 治療の個別化と病理診断

乳癌では、針などによる生検で採取された組織の病理診断は、癌の診断のみならず、診断後の治療方針選択の指標としての役割を果たしている。ホルモン受容体であるエストロゲン受容体 (ER)、プロゲステロン受容体 (PgR), human epidermal growth factor receptor 2 (HER2), 細胞の増殖能と関連する Ki-67 によって乳癌はサブタイプ分類される。これらの因子の発現はいずれも病理診断に使われるガラス標本を使って免疫組織化学などの方法により判定され、それぞれのサブタイプによって異なった治療が行われる<sup>1)</sup>。

乳腺の乳管や小葉の壁は管腔内側の上皮細胞 (luminal epithelium) と外側、すなわち基底膜側の筋上皮細胞

(myoepithelium) の2層で構成されている。luminal epithelium様の分子生物学的性格を有する乳癌はluminal type と呼ばれ、ER とそれに関連した遺伝子群を発現しており、女性ホルモンに対する感受性がありホルモン療法の効果が期待される。luminal Aとは増殖能が低い予後良好なタイプで、ホルモン療法単独での効果が期待される。一方、luminal Bは増殖能が高い予後不良なタイプで、ホルモン療法に加えて化学療法を行うことを考慮する必要がある。luminal A および luminal B は分子生物学的に定義された intrinsic subtype であるが、日常の病理診断では ER/PgR, Ki-67の免疫組織化学を用いて判定を行い、病理学的なサブタイプである luminal A-like, luminal B-like のタイプ分けを行っている<sup>2)</sup>。

## 2. 分子標的治療と病理診断

特定の分子のみを制御する分子標的治療は副作用の発現を抑えて高い治療効果が期待される。治療の標的となるタンパク質の発現の評価が病理組織標本を用いて行われており、正確な判定が分子標的薬の適応や効果を予測するために必要になっている。

HER2遺伝子はヒト上皮増殖因子受容体 (EGFR) 遺伝子と類似の構造を有する癌遺伝子である。HER2遺伝子がコードする HER2タンパクは細胞膜を貫通する受容体型糖タンパクで、チロシン残基のリン酸化により活性化され、ras/raf などを経たシグナル伝達経路を介して細胞の増殖に関与している。HER2に対しては、その働きを抑える分子標的薬が創られており、免疫組織化学を用いて 0, 1+, 2+, 3+と細かく分類された HER2発現の程度によって治療薬の適応が決定される<sup>3)</sup>。正確な判定のためには検体の固定時間や染色方法などを厳格に管理し、最新のガイドラインに沿って診断することが必

要となっている。

また、ER、PgR、HER2の3つのマーカーがいずれも陰性のトリプルネガティブと呼ばれる乳癌には悪性度の高い癌が多く、特異的な治療がないため化学療法が行われている。トリプルネガティブ乳癌にする治療の一つとして免疫チェックポイント阻害剤が注目されている。本来、身体に有害な病原体や癌などの異常細胞は、NK細胞やT細胞などの免疫細胞によって排除されている。しかし、一部の癌細胞は自己防衛のためPD-L1という物質を発現し、T細胞が持つ免疫抑制もしくは停止スイッチのPD-1に結合し、免疫機能を阻害している。そのため、抗PD-L1抗体を用いてPD-L1とPD-1の結合を阻害することで、活性化T細胞の不活化を防ぎ、腫瘍免疫を維持することが期待される。トリプルネガティブ乳癌において、腫瘍浸潤免疫細胞（腫瘍組織内および腫瘍組織の辺縁部に局在する免疫細胞）におけるPD-L1発現率が1%以上の場合に、免疫チェックポイント阻害薬である抗PD-L1モノクローナル抗体による治療が適応となる<sup>4)</sup>ことから、病理組織標本を用いた正確なPD-L1の判定が必要とされている（図1）。

### 3. 組織学的な治療効果の判定

手術で乳癌を切除する前に、生検によって得られた情報から治療を行う場合がある。治療後に行われた手術で摘出された検体の病理組織標本を観察して、癌細胞の有無、残存している癌細胞や周囲の組織の変化を調べて術前治療の効果がどれくらいあったかを判定する（図2）。このような病理医による治療効果判定は術後治療方針の決定や予後予測だけでなく、臨床試験や乳癌登録データの質を保つ上でも重要である<sup>5)</sup>。

### 4. がんゲノム医療と病理診断

これまでのがんの治療薬はがんが発生した臓器によって決められていた。しかし、同じ種類の遺伝子異常があれば、臓器が異なってもその遺伝子異常に対応する治療薬の効果が期待できることがわかってきた。つまり、臓器ごとではなく、がんの原因となる遺伝子異常ごとに薬剤を選択できるようになることが期待されている。このような遺伝子異常の情報に基づいた「がんゲノム医療」が動き

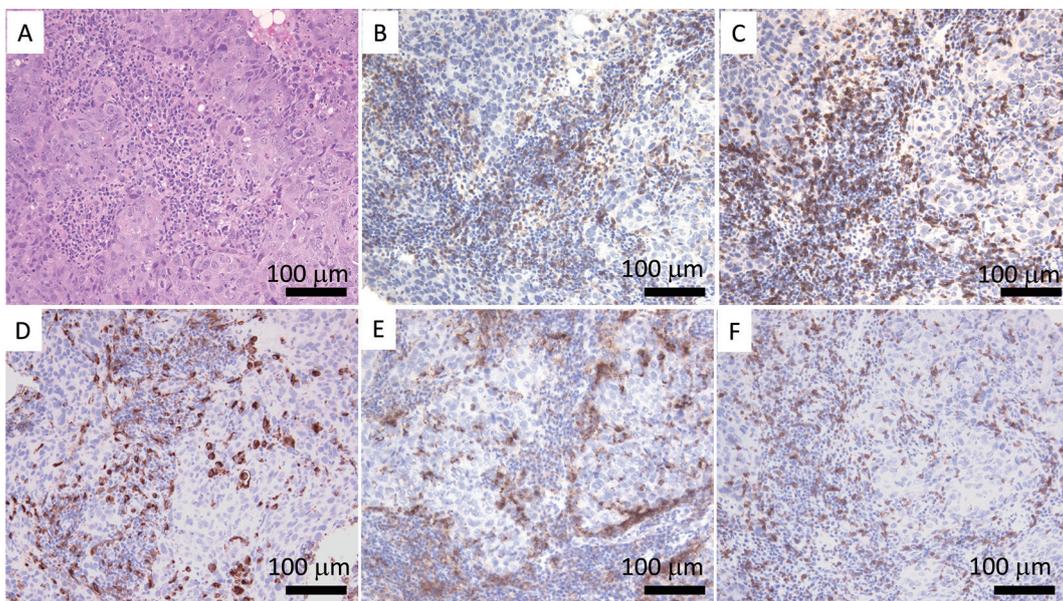


図1 トリプルネガティブ（ER/PgR/HER2陰性）乳癌組織に浸潤する免疫細胞とPD-1、PD-L1の発現  
トリプルネガティブ乳癌は悪性度の高い癌が多く、大型の核をもち、増殖が盛んなため核分裂像が多く見られる（A）。癌細胞の辺縁部や内部にはCD4陽性のTリンパ球（B）やCD8陽性のTリンパ球（C）、マクロファージ（D）などが多数見られ、PD-L1（E）やPD-1（F）に陽性を示す細胞も認められる。腫瘍組織内および腫瘍組織の辺縁部に局在する免疫細胞のうち1%以上にPD-L1の陽性像が観察されると、抗PD-L1モノクローナル抗体をもちいた分子標的治療が適応となる。

出し、治療法を選ぶために多数の遺伝子を一度に調べる「がんゲノムパネル検査」が行われるようになっている（表1）。高速で大量のゲノムの情報を読み取る「次世代シーケンサー」という解析装置を用いると、1回の検査で多数の遺伝子を同時に調べることができる。病理標本作製のために作られたホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）ブロックにはがん細胞の核酸が含まれてお

り、FFPE ブロックから抽出された核酸が「がんゲノムパネル検査」に用いられている<sup>6)</sup>。臨床医、病理医、病理検査技師は協力して、品質の高い核酸を含むFFPEブロックを作製することが重要である。がんの遺伝子異常の検査のために病理医はゲノム診断の解析に必要な腫瘍量を有するFFPEブロックを選択し、HE染色標本上にかん領域をマーキングするとともに腫瘍量（総腫瘍

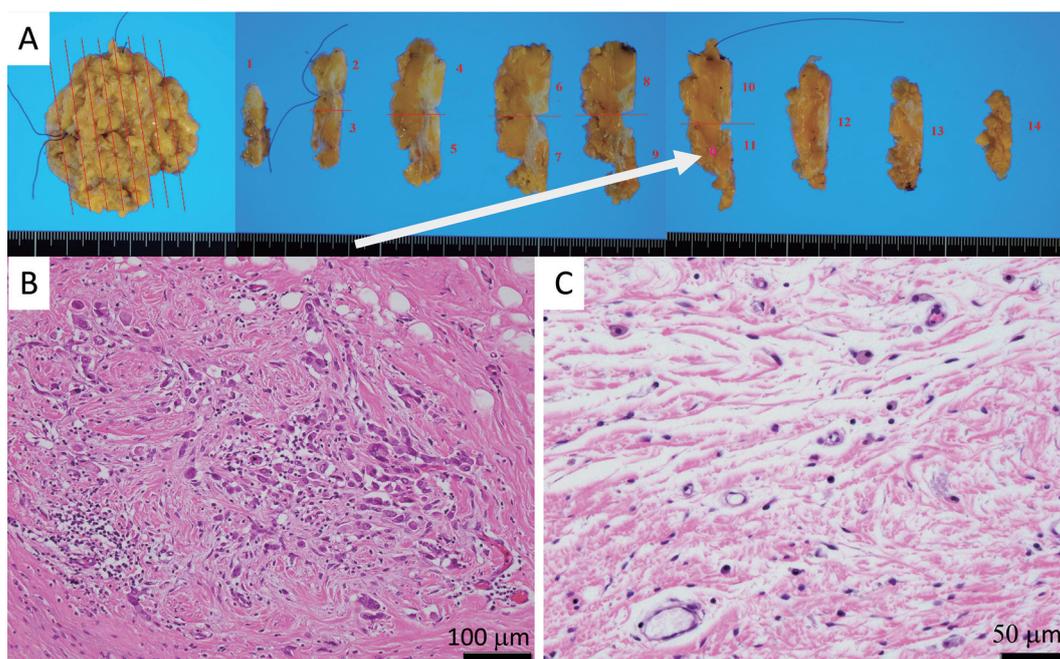


図2 病理組織学的な術前治療の効果判定  
 生検でHER2タイプとわかった22×18×27mm大の乳癌に対して抗HER2療法を行ってから腫瘍の部分切除術が行われた。手術前の画像検査では腫瘍は消失していた。手術で部分切除された乳腺を5mmでスライスして標本作製し（A）、顕微鏡で観察すると、1ヵ所に2×2mm大の浸潤癌が残っていた（B）が、その他の癌細胞は消失していた。癌があったと推定される部分の組織には線維化やマクロファージの浸潤が見られた（C）。

表1 主ながん遺伝子パネル検査のFFPE組織ブロックの条件

がん遺伝子パネル検査	解析遺伝子数	未染色標本条件			腫瘍細胞含有割合 (%)	測定に必要な総DNA量 (ng)
		厚さ (μm)	枚数	表面積 (mm <sup>2</sup> )		
Oncoprime	223	5~10	10	16	≥20	150
OncoGuide™NCCオンコパネルシステム	114	5 10	10 5	16	≥20	200
FoudationOne®CDxがんゲノムプロファイル	324	4~5	10	25	最適≥30 (最小≥20)	50
オンコマイン™Dx TargetTestマルチCDxシステム	46	5	5~10		≥30	10

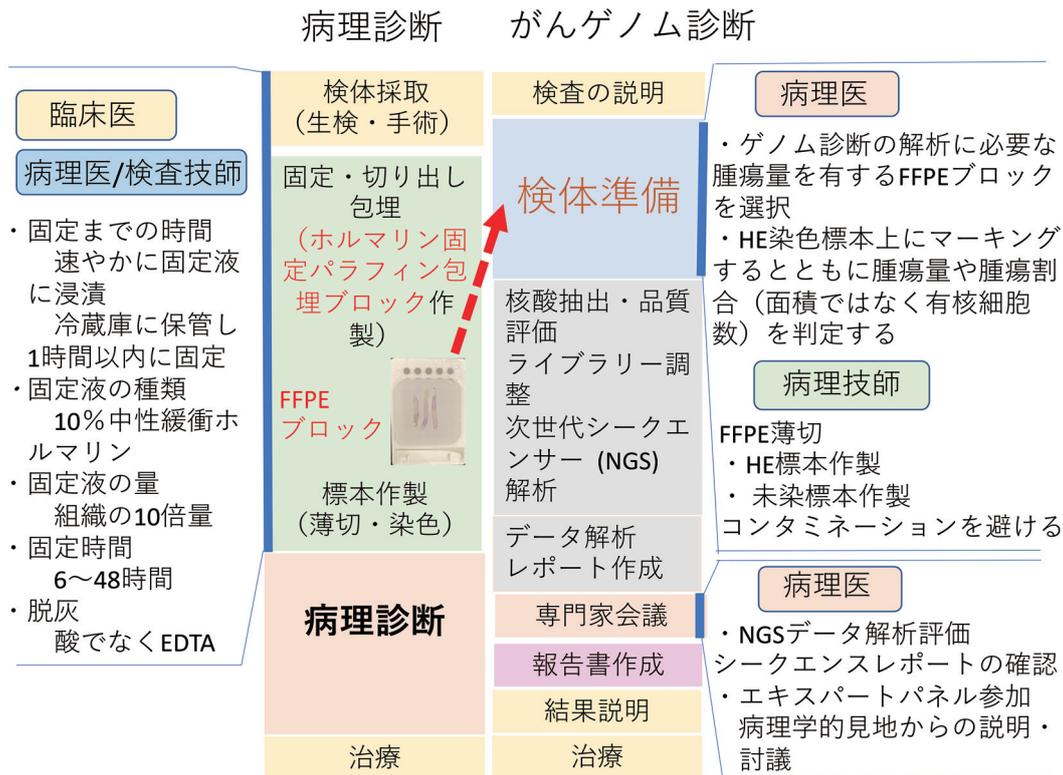


図3 病理診断とがんゲノム診断の関連性

細胞数)や腫瘍割合(標本中の全細胞に占める腫瘍細胞の%)を判定する。また病理検査技師は病理医の選んだブロックから標本作製する。解析結果レポートには検出された遺伝子変異やバイオマーカー、効果が期待できる薬剤、臨床試験の情報などが記載されており、その結果に対して腫瘍内科医、患者主治医や病理医、臨床検査技師、認定遺伝カウンセラーなどがエキスパートパネルカンファレンスを行い、結果の解釈や臨床的意義が話し合わせられ、治療方針が患者さんに説明される。

## 5. おわりに

日常病理診断とがんゲノム診断は関係しており、病理医にもゲノム診断技術に関わる知識が必要とされている。しかし、最適な治療を行うためには迅速で正確な病理診断が行われることが最も重要であり、病理診断が良質な医療の提供を支えている。高度の技術と知識を持つ臨床検査技師により質の高い病理標本が作製されることが正確な病理診断やゲノム診断につながる。医療の質の向上のためには臨床医、病理医、臨床検査技師が互いに情報

を共有し、密なコミュニケーションをとることが重要であると考えられる。

## 文 献

- 1) Curigliano, G., Burstein, H. J. P., Winer, E., Gnant, M., *et al.*: De-escalating and escalating treatments for early-stage breast cancer: the St. Gallen International Expert Consensus Conference on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2017. *Ann Oncol*, **28**: 1700-1712, 2017
- 2) Sørlie, T., Perou, C. M., Tibshirani, R., Aas, T., *et al.*: Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **98**: 10869-10874, 2001
- 3) Wolff, A. C., Hammond, M. E. H., Allison, K. H., Harvey, B. E., *et al.*: Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Focused Update.

- Clin Oncol., **36** : 2102-2122, 2018
- 4) Schmid, P., Adams, S., Rugo, H. S., Schneeweiss, A., *et al.* : Atezolizumab and Nab-Paclitaxel in Advanced Triple-Negative Breast Cancer. N Engl J Med., **379** : 2108-2121, 2018
- 5) Sahoo, S., Lester, S. C. : Pathology of breast carcinomas after neoadjuvant chemotherapy : an overview with recommendations on specimen processing and reporting. Arch Pathol Lab Med., **133** : 633-642, 2009
- 6) Gaffney, E. F., Riegman, P. H., Grizzle, W. E., Watson, P. H. : Factors that drive the increasing use of FFPE tissue in basic and translational cancer research. Biotech Histochem., **93** : 373-386, 2018

## *Pathological diagnosis to support medical care*

*Yoshimi Bando*

*Division of Pathology, Tokushima University Hospital, Tokushima, Japan*

### SUMMARY

Pathological diagnosis is useful for the personalization of cancer treatment including that for breast cancer. Breast cancer is subtyped by hormone receptors, Ki-67 and human epidermal growth factor receptor 2 (HER2). Immunohistochemistry of tumor specimens is performed to determine the expression of these factors, with different treatments administered for each subtype, such as endocrine therapy, HER2-targeted therapy and chemotherapy. In addition, to ascertain the indications for immune checkpoint inhibitors, the status of programmed death ligand 1 (PD-L1) on tumor-infiltrating immune cells is also determined by the histopathology of specimens.

Pathologists examine the effects of neoadjuvant treatment on patient samples obtained during surgery. Such information is useful for guiding the selection of subsequent appropriate therapeutic strategies.

Cancer genomic panels using formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) blocks of pathological samples enable the examination of many important genes and biomarkers that may indicate if a targeted therapy or a clinical trial is suitable for that patient. Clinicians, pathologists, and laboratory technicians work together to correctly handle such specimens to prevent the deterioration of the nucleic acid contained within the blocks. Pathologists review sections of samples on glass slides to assess the sample quality and enable selection of the optimal FFPE blocks. Evaluating tumor content and indicating tumorous regions within sections are also important tasks for pathologists. Furthermore, the suitability of any potential therapy is discussed with the pathologists based on their findings.

Routine pathological diagnosis and cancer genome diagnosis are closely related, and pathologists require knowledge of genomic diagnosis technology. However, the most important aspect for optimal treatment is a quick and accurate pathological diagnosis to support the provision of high-quality medical care.

Key words : immunohistochemistry, cancer genomic panels, targeted therapy, FFPE blocks