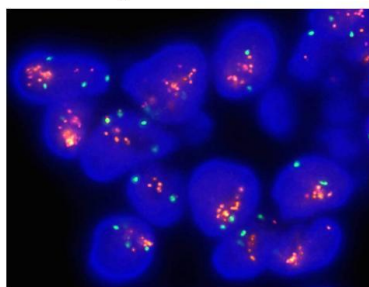
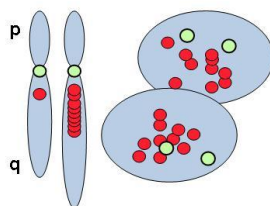
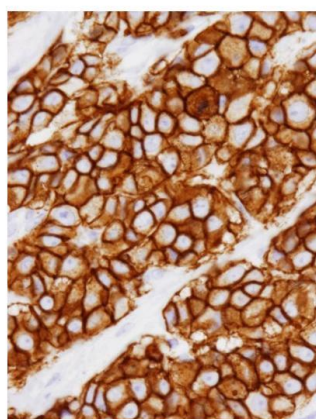


胃癌における HER2 病理組織標本作製および 病理診断のガイドライン（案）



<胃癌編>		
1. はじめに	p. 2
2. 標本の準備	p. 2
3. HER2 タンパク病理組織標本作製	p. 3
4. HER2 遺伝子病理組織標本作製	p. 6
5. HER2 タンパク病理組織標本作製と HER2 遺伝子病理組織標本作製の留意点と 診断までのフローチャート（全体）	p. 7
6. 参考文献	p. 8

平成 23 年 11 月 16 日

社団法人 日本病理学会

1. はじめに

癌の増殖などに関連する分子機構の解明に伴い、分子標的薬剤の開発が急速に進むとともに、治療効果や予後などを事前に予測するバイオマーカーの探索が重要性を増している。

中でも **HER2** タンパク過剰発現／遺伝子増幅は、乳癌では予後因子であるばかりでなく、分子標的薬の特異的治療ターゲットとして判定方法が国際的にも重要であるとされ、その手技も確立されている。一方、胃癌においては、予後因子としての意義は現段階では未確定であるものの、**HER2** 陽性進行・再発胃癌を対象に実施された国際共同第Ⅲ相試験である **ToGA** 試験¹⁾で **HER2** タンパク過剰発現／遺伝子増幅を認める胃癌症例において、**HER2** による全生存期間延長効果が示されたことから、治療に先立ちその発現を確認することは必要不可欠だと考えられる。また胃癌での判定基準・判定方法は乳癌のそれと異なっており、このような動向を踏まえ日本病理学会では、ここに「胃癌における **HER2** タンパク／遺伝子病理組織標本作製・病理診断ガイドライン」を作成し、**HER2** の適正な病理診断の標準化および精度管理を行う次第である。

2. 標本の準備

- a. 検索対象組織：胃癌の原発巣または転移巣のホルマリン固定、パラフィン包埋組織を用い、浸潤部／非浸潤部に関係なくすべての癌部を判定の対象とする。
- b. 固定条件：推奨固定液：10%中性緩衝ホルマリン
推奨固定時間：6時間以上 48時間以内
- c. 染色する標本の選択は日本病理学会認定病理専門医が行い、癌の部分を含む標本をヘマトキシリン／エオシン染色（以下 **HE** 染色）で選び、その組織切片を作製する。手術材料で複数の標本が癌部を含む場合でも、原則的には代表的な 1 枚の標本で判定する。
- d. 標本薄切：**HER2** タンパク病理組織標本作製は 4 μm 、**HER2** 遺伝子病理組織標本作製は 5 μm が最適であり、シランコートスライド（あるいは **APS** コート）またはニューシランコートスライド（あるいは **MAS** コート）に切片を載せることが望ましい。
- e. 未染色標本は、薄切後、6週間以内に染色を施す。6週間より長く保管した未染標本は使用せず、新たに薄切を実施し染色に供する。
- f. 再発胃癌では転移巣の新たな組織採取が困難な場合がある。そのような場合は過去の手術もしくは内視鏡生検による原発巣の組織ブロックが検討対象となるが、検体の固定時間等を鑑みて染色する標本を選択することが推奨される。

3. HER2 タンパク病理組織標本作製：免疫染色法 Immunohistochemistry (IHC) 法

- a. 染色方法：体外診断用医薬品として市販されている抗体を用い、販売元の推奨プロトコールに従う。染色時には同時に陽性、陰性コントロールを染色する。
- b. 観察手順：
- ① 陽性および陰性コントロールスライドの特異性および染色強度を観察し、検体や染色過程が適正か否かを判断する。
 - ② あらかじめ HE 染色標本で標本内の癌部を確認する。生検材料では、浸潤部、非浸潤部の区別には捕らわれないが、手術材料ではなるべく浸潤部を選ぶことが望ましい。
 - ③ 光学顕微鏡の 4 倍対物レンズを使用し、癌細胞の HER2 タンパク陽性像、陽性染色強度、陽性細胞率を観察する。
 - ④ 対物レンズを 10 倍に切り替え、陽性所見が細胞膜か細胞質に局在するかを確認する。細胞質のみに陽性所見がみられるものは陰性と判定する。
 - ⑤ 10 倍で細胞膜に局在する陽性像が確認できない場合には、さらに対物レンズ 20 倍で観察する。
 - ⑥ この時、生検材料と手術材料では判定基準が異なるので、検体の種類に準じて判定をすること。
- c. 判定方法：判定は、日本病理学会認定病理専門医が行う。

表 1. 生検材料 HER2 タンパク病理組織標本の判定基準

判定	スコア	染色パターン
陽性	3+	癌細胞の染色割合に関係なく、強い完全な基底側または側方側細胞膜の陽性染色がある癌細胞クラスター（注）
境界域 (equivocal)	2+	癌細胞の染色割合に関係なく、弱～中程度の完全な基底側または側方側細胞膜の陽性染色がある癌細胞クラスター
陰性	1+	癌細胞の染色割合に関係なく、弱／ほとんど識別できないほどかすかな細胞膜の陽性染色がある癌細胞クラスター
	0	陽性染色なしあるいは細胞膜の陽性染色がある癌細胞なし

* 胃癌組織においては細胞膜での染色が、全周性でなく側方側と基底側である。

* 腫瘍内不均一性が高く、生検材料での判定では 10%カットオフを採用しない。

* HER2 タンパク過剰発現の判定：胃癌細胞の膜における染色性およびその染色強度のみを対象とし、細胞質における反応は判定対象外とする。細胞膜における反応性は上記のごとく基準で、スコア 0 ～ 3+ に分類する。

（注）癌細胞クラスターとは 5 個以上の癌細胞の細胞集塊のことである

図1. HER2 タンパク 病理組織標本による染色性

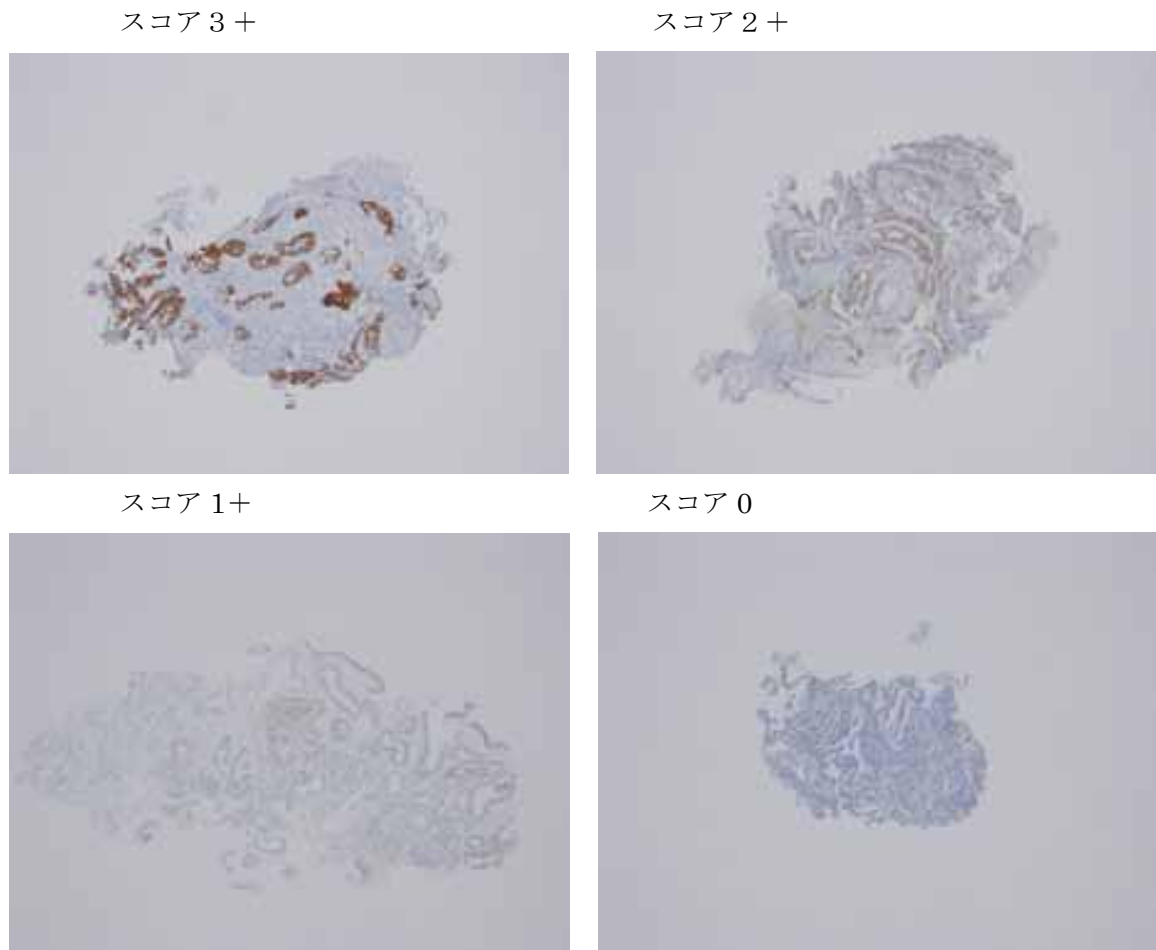


表2. 手術材料 HER2 タンパク 病理組織標本の判定基準

判定	スコア	染色パターン
陽性	3+	強い完全な基底側または側方側細胞膜の陽性染色がある癌細胞が一切片に10%以上 全周性に認められない場合もある
境界域 (equivocal)	2+	弱～中程度の完全な基底側または側方側の細胞膜の陽性染色がある癌細胞が一切片に10%以上
陰性	1+	弱／ほとんど識別できないほどかすかな細胞膜の染色がある癌細胞が一切片に10%以上 癌細胞は細胞膜のみが部分的に染色されている
	0	細胞膜に陽性染色なし 細胞膜の陽性染色がある癌細胞が一切片に10%未満

*手術材料における判定方法は乳癌の場合と同様、10%のカットオフ値（腫瘍細胞の10%以上が陽性）が適用される(注)。

*HER2 タンパク 過剰発現の判定は生検同様、胃癌細胞の膜における染色性およびその染色強度のみを対象とし、細胞質における反応は判定対象外とする。細

胞膜における反応性は上記のごとく基準で、スコア 0 ～ 3+ に分類する。

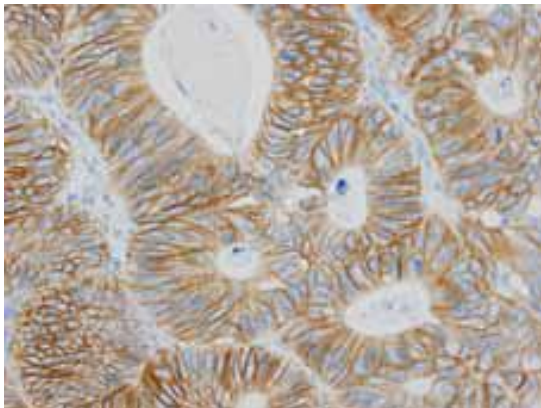
*過去の論文⁽¹⁾では、腸管型(管状腺癌)とびまん型(低分化型腺癌など)では、前者のほうが有意に HER2 タンパクの過剰発現の頻度が高いとう報告もあり、これらの組織像が混在する場合には、腸管型が含まれる標本での染色が推奨される。

*判定に苦慮した場合には、「2+」として、HER2 遺伝子標本作製による確認が推奨される。

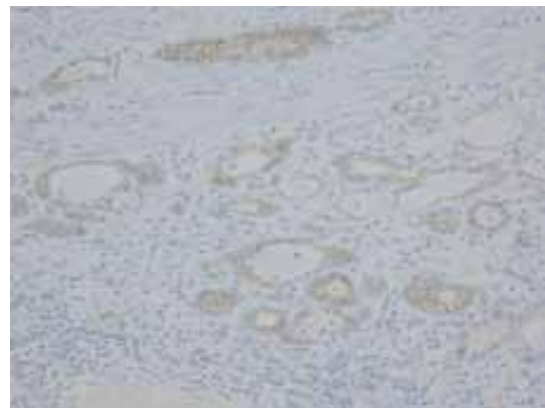
(注) 乳癌では 2011 年 4 月現在、30%がカットオフ値となっている。

図 2. 手術材料の HER2 タンパク病理組織標本による染色性

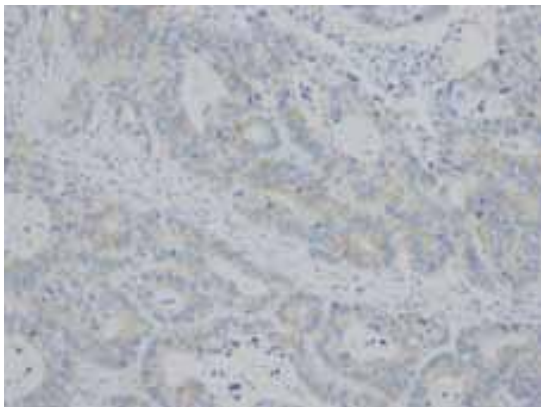
スコア 3+



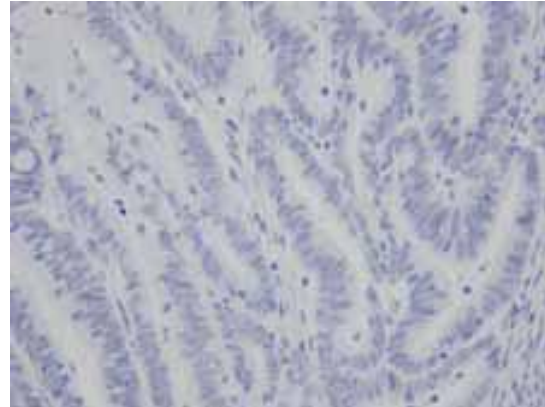
スコア 2+



スコア 1+



スコア 0



4. HER2 遺伝子病理組織標本作製：In situ hybridization (ISH) 法

Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) 法、Dual color *in situ* hybridization (DISH) 法

- a. 染色方法：体外診断用医薬品として市販されているプローブを用い、販売元の推奨プロトコールに従う。染色時には同時に陽性、陰性コントロールを検索する。
- b. 判定手順：
 - ① 陽性および陰性コントロールスライドの特異性および染色強度を観察し、検体や反応過程が適正か否かを判断する。
 - ② あらかじめ HE 染色標本で標本内の癌の部分を確認する。
 - ③ HER2 タンパク病理組織標本作製後の HER2 遺伝子病理組織標本作製の場合は、HER2 タンパク病理組織標本作製の染色強度を確認する。
 - ④ シグナル計数は細胞同定能力を有する観察者が行う。可能であれば複数の観察者で行い、不一致の場合は速やかに再計測をすることが望ましい。
- c. 判定方法：組織形態をベースとした検査であるので、判定は、日本病理学会認定病理専門医とのダブルチェックを行うことが推奨される。

表 3. HER2 遺伝子病理組織標本の判定基準

判定	内容
陽性	HER2/セントロメア17比 >2.2
境界域 (equivocal)	HER2/セントロメア17比 1.8~2.2
陰性	HER2/セントロメア17比 <1.8

*浸潤部分における 20 個の胃癌細胞での HER2 (オレンジ蛍光シグナル)、セントロメア 17 (グリーン蛍光シグナル) 各々のシグナル数を蛍光顕微鏡で計数し、癌細胞 20 個のセントロメア 17 シグナル総数に対する HER2 シグナル総数の比率を算出する。

*HER2/セントロメア 17 比が 1.8 以上 2.2 以下の時は、HER2 タンパク病理組織標本作製を再試行するか、もしくは HER2 遺伝子病理組織標本作製でさらに 20 個の癌細胞で計測し、40 個で合わせて判定することが望ましい²⁾。その際、HER2/セントロメア 17 比が 2.0 以上のものを陽性、2.0 未満のものを陰性と判断する。

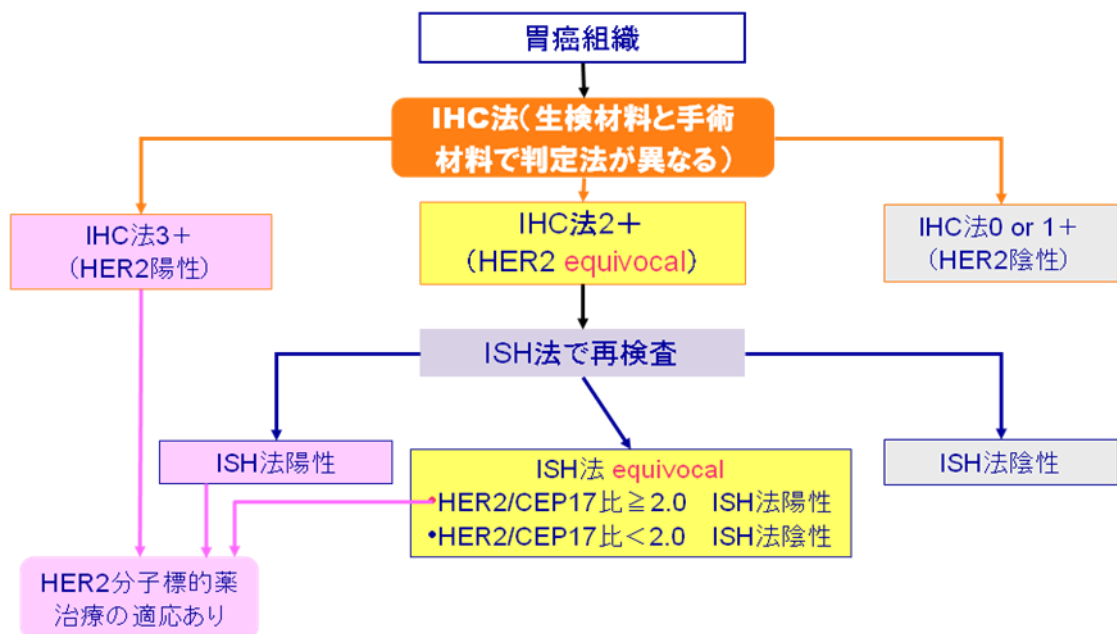
(注) 実際の染色性に関しては乳癌を参照のこと。

5. HER2 タンパク病理組織標本作製と HER2 遺伝子病理組織標本作製の留意点と診断までのフローチャート（全体）

<留意点>

- * 乳癌に比べ胃癌は腫瘍そのものが不均一である頻度が高い、腫瘍内 HER2 発現も不均一性が高いなどの理由により、HER2 過剰発現をより確実に検出するために、HER2 遺伝子標本作製法に比べ全体像が把握しやすい HER2 タンパク標本作製を先行して行うことが望ましい。
- * HER2 タンパク病理組織標本作製を行った後に「2+」と判定した症例に関して HER2 遺伝子病理標本作製がなされることが推奨される（推奨グレード B）。

<フローチャート>



IHC法: HER2病理組織標本作製(免疫染色)

ISH法: HER2遺伝子病理組織標本作製: FISH法、DISH法

Wolf AC, et al: J Clin Oncol 25: 118-145, 2007
Walker RA, et al: J Clin Pathol 61, 818-824, 2008

6. 参考文献

- 1) Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, Chung HC, Shen L, Sawaki A, Lordick F, Ohtsu A, Omuro Y, Satoh T, Aprile G, Kulikov E, Hill J, Lehle M, Rüschoff J, Kang YK; ToGA Trial Investigators. Lancet. 2010 Aug 28; 376 (9742):687-97.
- 2) HER2 diagnostics in gastric cancer-guideline validation and development of standardized immunohistochemical testing. Rüschoff J, Dietel M, Baretton G, Arbogast S, Walch A, Monges G, Chenard MP, Penault-Llorca F, Nagelmeier I, Schlake W, Höfler H, Kreipe HH. Virchows Arch. 2010 Sep;457(3):299-307.

本ガイドラインは、社団法人日本病理学会（理事長 青笹 克之）の official recommendation として医療業務委員会（委員長 根本則道）のもと、精度管理委員会で作成された。

精度管理委員会（平成 22 年度～23 年度）

鬼島 宏（委員長、弘前大）、羽場礼次（香川大）、加藤哲子（山形大）、
笹島ゆう子（帝京大）、秋山 太（癌研）、和田 了（順天堂大静岡病院）、
柳澤昭夫（京都府立医大）、林 徳真吉（長崎大）、木佐貫篤（宮崎県立日南病院）

胃癌ワーキンググループ

落合 淳二（国立がん研究センター東病院）、山本智理子（癌研）、
鬼島 宏（弘前大）、佐々木 毅（横浜市大）

（平成 23 年 4 月 22 日作成）