

シリーズ —臨床医が知っておきたい最近の進歩，がん病理を中心に—

2 がんの病理診断の進歩： 良悪の判定や原発巣の推定をめぐって

がんの病理組織診断の基本はHE染色標本を中心に、正常細胞から逸脱した細胞所見や不整腺管の形成、がん胞巣の増殖浸潤パターンなどを形態学的指標として診断します。しかし、正常腺管と区別の難しいがん、例えば高分化の前立腺がんを限られた針生検材料のHE標本のみで診断することはしばしば困難です。シリーズ2回目の今回は、腫瘍の良悪の指標として病理診断の現場で活用されている免疫組織染色や標本からがん組織を選択的に採取する機器、原発不明がんの原発巣の推定に使われているがん関連遺伝子発現解析(CancerTYPE ID[®])、がんの再発や予後の指標となる血中循環腫瘍細胞(CTC)の測定といった新しい検査方法について紹介したいと思います。

腫瘍の良悪判定に活用される 免疫組織染色

近年各種生検技術が進歩し、低侵襲で効果的にがん病変を生検することが可能になり、少ない材料からより多くの情報を引き出し、的確に病理診断することが可能になっています。免疫組織染色もそのための手法の1つです。

正常の乳腺や前立腺の腺組織は基底側の基底細胞と内腔側の腺上皮から成る2層構造を示しますが、基底細胞が消失した管腔構造は、悪性化を疑う所見です。2層性の構築を確認するため基底側の基底細胞に陽性所見を示す特異抗体を用いて免疫組織染色を行います。

前立腺がんの場合、悪性化の指標として抗 α -methylacyl-CoA racemase(AMACR)抗体染色も有用です。AMACRは前立腺がんのマイクロアレイ遺伝子検索で同定された酵素蛋白で、前立腺のがん細胞の胞体あるいは腺管内腔側に粗大顆粒状に陽性になります。一般的には、基底細胞の細胞質に陽性所見を示す高分子サイトケラチン(抗34 β E12)に対する抗体と基底細胞の核に存在するp63に対する抗体、がん特異的マーカーであるAMACRに対する抗体の3種類の抗体が入ったカクテル抗体を用いて免疫組織染色を行います。

非腫瘍部の腺管(図1、矢印)では基底細胞の細胞質に高分子サイトケラチンと核にp63の陽性所見が認められますが、がん組織では基底細胞の消失と腺上皮細胞質に顆粒状のAMACRの陽性所見が得られ、前立腺がんの病理診断が確定します。

レーザー・マイクロ・ ディセクションと遺伝子診断

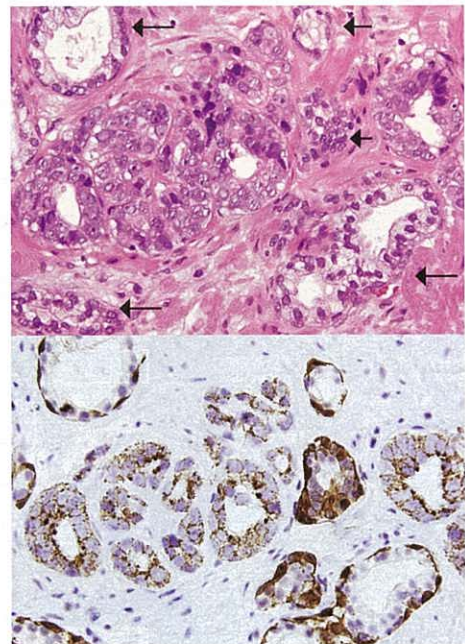
顕微鏡下に組織切片からがん組織と正常組織をレーザー波を用いて切り分け、採取したがん組織の遺伝子解析ができる機器が開発されています。多少古くなりますが、分子標的治療薬ゲフィチニブ(商品名イレッサ)は非小細胞肺癌細胞の上皮成長因子受容体(EGFR)遺伝子に変異を持つ場合に抗がん作用を発揮する

ことが分かりましたので、肺がんの生検組織切片からレーザー・マイクロ・ディセクションによってがん組織を採取し、EGFR遺伝子変異が存在するかどうかを決定します。イレッサには副作用として重篤な間質性肺炎があり、EGFR遺伝子変異の存在を確認し、イレッサの使用を決定することは極めて大切なプロセスです。最近、肺腺がんからがんの原因となるEML4-ALK融合遺伝子が日本の研究者によって発見され、特異的な分子標的治療薬であるALK阻害薬(クリゾチニブ)が著効を示すことが報告されています(がんの遺伝子異常については別号で紹介いたします)。

原発巣の同定に役立つ免疫組織 染色とがん関連遺伝子解析

転移がん組織の解析から原発巣を推定し、同定することはそのがんの治療法を選択する上で極めて重要です。現在は病理組織学的所見と免疫組織染色から原発巣を推定し、臨床医とともに原発巣を同定するのが一般的です。しかし、対象症例の中にはそれだけでは原発巣の確定が困難な場合が多々あります。そのため、最近では分子生物学的手法を用いて原発巣を推定する方法の開発が進ん

〈図1〉前立腺生検組織のHE染色(上)と免疫組織染色(下)



非腫瘍部の腺構造(矢印)には2層性が見られ、基底細胞の細胞質(抗34 β E12抗体)および核(抗p63抗体)に陽性所見が見られる。異型腺管に基底細胞の消失と細胞質に顆粒状のAMACR陽性所見が認められるのは前立腺がんの所見

でおり、原発巣の病理診断に大きく貢献する可能性があります。

まず免疫組織染色の有用性ですが、例えば分子量の異なるサイトケラチン(CK7とCK20)に対する抗体による染色パターンの組み合わせで原発巣の予測がある程度可能です。CK7陰性、CK20陽性で結腸がんや直腸がん、一部の胃がんの可能性があり、CK7陽性、CK20陰性で肺がん、乳がん、卵巣がんの可能性があり、CK7陽性、CK20陽性で膀胱がんや一部の胆管・脾・胃がんの可能性があり、CK7陰性、CK20陰性では前立腺がん、腎がんの可能性があり

さらに臓器特異的分子マーカーに対する抗体を用いても原発巣の推定が可能です。TTF-1(肺、甲状腺)、ER、PGR(乳腺、生殖器など)、HEP-PCR-1(肝臓)、CD10(腎臓)、PSA(前立腺)に対する抗体は特異性が高く、原発巣の推定が可能になります。

次いで、分子生物学的手法ですが、米国のbioTheragnostics社で開発されたCancerTYPE ID[®]テストという解析法があります。原発がん転移がん症例のホルマリン固定パラフィン包埋ブロックから抽出したメッセンジャーRNAに対して、さまざ

まながんに関連する92個の遺伝子の発現プロファイルを定量的リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応法で解析し、30種類のがん種と54種類の組織学的サブタイプに分類する方法です。大規模な検証試験から、感度・特異度は、がん種分類では87%と99%以上、サブタイプ分類では85%と99%以上と報告されています(*Arch Pathol Lab Med* 2006; 130: 465-473, *Clin Cancer Res* 2012; 18: 3952-3960)。

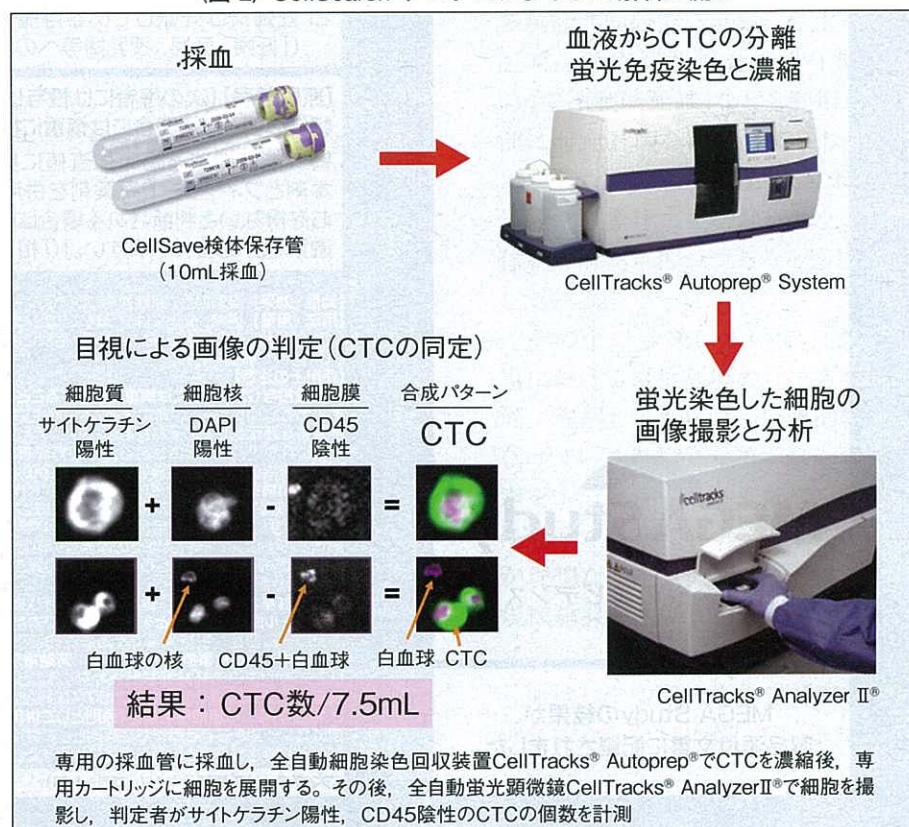
病理組織学的解析と免疫組織染色に分子生物学的解析を融合させた統合的病理診断のニーズは今後いっそう増加すると考えられます。

CTCとがんの治療効果判定・ 予後予測

末梢血液中を循環するCTCも簡単に検出できるようになってきました。現在、米食品医薬品局(FDA)の承認を受けたCTC測定機器としては米国Veridex社の「CellSearch[®]」があります。米国および欧州で乳がん、大腸がん、前立腺がんの予後の診断に用いられています。測定原理は、磁性ビーズを結合させた抗EpCAM抗体(上皮細胞のマーカー)でがん細胞をトラップし、蛍光標識した抗CK抗体と蛍光色素であるDAPIの染色剤で核染色された細胞をCTCとして検出し、個数を計数します(図2)。

前立腺がんでは、治療薬の臨床試験にCTC個数の変化(「5個以上」から「5個より少ない」)が生物学的マーカーとして有効であること、前立腺がんの標準的なバイオマーカーであるPSAを利用した予後予測より高精度であると報告されています。

〈図2〉CellSearch[®]システムによるCTC解析の流れ



(図1、2ともジェネティックラボ病理解析センター提供)