

4 分子標的治療と病理診断 — I

個別化医療の主軸となっている分子標的治療が臨床の現場に導入されて10年以上が経過し，その先駆けとなったHER2分子を標的とした「治療」と「検査」の組み合わせは大きな成果を挙げました。こうした特定の治療薬に対し高い治療効果を示す患者や有害事象の発現リスクが高い患者を同定する検査は，近年コンパニオン診断(companion diagnostics ; CDx)と呼ばれ，病理診断はその中心的役割を果たしています。そこでシリーズ4回目と5回目では「分子標的治療と病理診断」を取り上げます。今回は，分子標的治療と病理診断の関わり，がん分子標的治療分野でとりわけ発展が著しい乳がんと肺がん領域におけるCDxの現状について概説したいと思います。

分子標的治療と病理診断の関わり

がん分子標的治療におけるCDxのうち，がんの特徴的な蛋白質の過剰発現や遺伝子増幅，転座といった異常な遺伝子の変化は，現在，免疫組織化学(IHC)検索や*in situ*ハイブリダイゼーション(ISH)検索などの薄切標本をベースとした分子病理学的手法により検査されています(表1)。こうした手法は通常の病理鑑別診断においても利用されており，技術的には同じですが，プレアナリシス段階からポストアナリシス段階までの一貫した標準化やCDxの分析・臨床妥当性に関する要求事項など，質的には大きく異なります。また，体細胞遺伝子検査として行われている変異検索においても病理検体が用いられており，CDxと病理診断業務は関りの深いものとなっています。

乳がん治療とCDx

早期乳がんに対する術後補助化学療法では，ザンクトガレン2011コンセンサス会議の推奨に準じた治療が一般に行われています。分子生物学的プロファイルに基づき確立されたIHCサブタイプで，エストロゲン受容体(ER)・プロゲステロン受容体(PgR)陽性でホルモン療法がベースとなるLuminal[乳管上皮細胞

(luminal cell)の意]タイプ，HER2標的治療の対象となるHER2タイプ，殺細胞性抗がん薬治療の適応となるトリプルネガティブタイプに分けられます。LuminalタイプはさらにHER2発現の有無や細胞増殖活性を反映するKi-67標識率の高低によって，AタイプとBタイプに分類されます(表2)。

これらのサブタイプは，病理医による半定量的あるいは定量的評価によって行われますが，特にKi-67では具体的な数値が臨床から求められることから，最近画像解析の活用が検討され始めています(図)。具体的には，Ki-67蛋白質のIHC染色標本(図-A)上で，褐色に染色された核の濃淡からKi-67蛋白質の陽性強度を自動識別プログラムにより赤(3+)，橙(2+)，黄(1+)，青(-)にクラス分けし(図-B，C)，全陽性率の他，より詳細なクラス別の陽性率評価が可能です。

トラスツマブの他，HER2標的治療にはEGFR/HER2デュアル阻害薬のラパチニブが用いられ，現在は進行乳がんの二次治療薬としてトラスツマブ治療後に増悪した患者や脳転移患者がその適応対象となっています。

最近では閉経後のホルモン療法抵抗性進行乳がんの分子標的治療薬として細胞内シグナル伝達分子



北海道大学病院病理部・コンパニオン診断学研究部門(兼任)特任講師
畑中 豊



北海道大学名誉教授(株)ジェネティックラボ 会長
吉木 敬

mTOR (mammalian target of rapamycinの略)の阻害薬であるエベロリムスが米国で承認されました。また，BRCA1/2変異乳がんやトリプルネガティブタイプの乳がんでは，DNA修復に関わるPARP(Poly(ADP-ribose)polymeraseの略)に対する阻害薬の臨床試験が進行しており，今後わが国での臨床導入に期待が集まっています。

非小細胞肺がん治療とCDx

肺がんの80%以上を占める非小細胞肺がん(NSCLC)の治療は分子標的治療の導入により大きく進歩しました。特に肺腺がんでは，がん細胞の増殖に密接に関係する“driver mutation”と呼ばれる遺伝子変異が近年相次いで発見されました。現在では，肺腺がんの50%を占めるEGFR，15%を占めるKRASの他，5%以下の頻度で見られるBRAF，HER2，MET，ALKなどの受容体やその下流のシグナル伝達分子での変異が知られており，肺腺がん全体では80%近くでdriver mutationが，がん細胞の増殖に関与していると考えられています。

がんの発生は多段階の発がんによると考えられていますが，がん細胞の生存が単一の遺伝子異常により生じた異常蛋白質に依存するという，いわゆる“oncogene addiction”と

いう新しい概念が近年提唱され，driver mutationがこうした依存に深く関与していることが次第に明らかになってきました。実際にoncogene addictionを起こしているがんに対し，その原因となるdriver mutationを標的とした治療を行うと著効を示します。

NSCLCに対する分子標的治療薬の代表的なものとしては，EGFR阻害薬であるゲフィチニブやエルロチニブ，そしてALK転座を標的としたクリゾチニブが挙げられます。クリゾチニブはALKとMETの両方に阻害活性を示すデュアル阻害薬ですが，現在はALK陽性の進行性NSCLCにのみ適応されており，このCDxではbreak apart probeを用いた蛍光ISH(FISH)法が用いられています。

肺がんにおけるALKの転座パートナーは，おもに微小管会合蛋白質であるEML4やキネシン関連蛋白質であるKIF5Bなどが知られています。

組織や細胞検体の品質管理

CDxでは標準化された手法にのっとり，核酸や蛋白質を正確に分析・測定することが要求されますが，何よりも検索に使用する病理検体の品質管理が重要です。特に組織検体の作製時に用いるホルマリンは，化学反応性が高く，蛋白質の化学修飾や核酸の断片化を引き起こすため，固定処理が不適切だと著しい検体品質の低下を招きます。

CDxではアナリシス段階やポストアナリシス段階が目ざされがちですが，プレアナリシス段階の成否が診断結果に大きな影響を与えることを常に意識しておく必要があり，そうした意味で病理検体作製業務もまた極めて重要な役割を果たしているといえます。

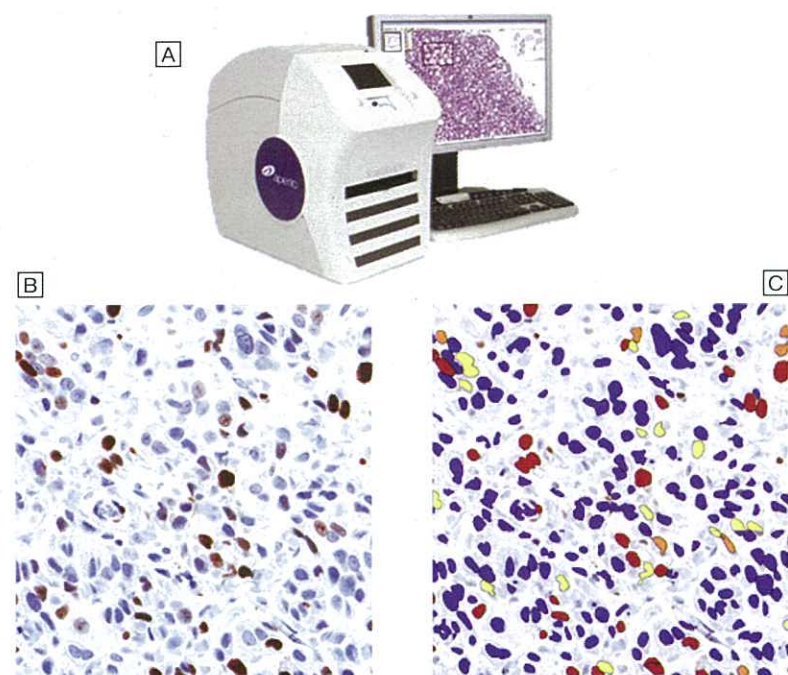
〈表1〉がん分子標的治療におけるコンパニオン診断の作業フェーズ

診断の分類	＜分子病理診断＞		＜遺伝子診断＞
	免疫組織化学(IHC)検索	<i>In situ</i> ハイブリダイゼーション(ISH)検索	体細胞遺伝子検査
検索対象	蛋白質発現	遺伝子増幅・転座	遺伝子変異
プレアナリシス段階(検体作製作業)	検体採取→ホルマリン固定/切り出し→パラフィン包埋ブロック作製	切片作製	(切片作製→)核酸抽出
アナリシス段階(染色・分析作業)	IHC法	蛍光ISH法 明視野ISH法 ※解析プローブ ・増幅: LSI/CENプローブ ・転座: Break apartプローブ	Direct sequence法 Scorpion-ARMS法 PNA-LNA PCR clamp法 PCR-Invader法 Cycleave PCR法 PCR-rSSO法(Luminex法)
ポストアナリシス段階(判定・診断作業)	定性的評価 半定量的評価 定量的(計数的)評価	計数的評価	各判定基準により評価

〈表2〉ザンクトガレン2011コンセンサス会議での推奨治療

IHCサブタイプ	定義	術後補助療法のタイプ
Luminal A	ER/PgR+, HER2-/低Ki-67	内分泌療法単独
Luminal B	ER/PgR+, HER2-/高Ki-67	内分泌療法±殺細胞性抗がん薬治療
Luminal B	ER/PgR+, HER2+	殺細胞性抗がん薬治療+HER2標的治療+内分泌療法
HER2陽性	ER/PgR-, HER2+	殺細胞性抗がん薬治療+HER2標的治療
トリプルネガティブ	ER/PgR-, HER2-	殺細胞性抗がん薬治療

〈図〉乳がんにおけるKi-67染色とその画像解析(アピリオ社ScanScope)



(表1, 2, 図ともジェネティックラボ病理解析センター提供)