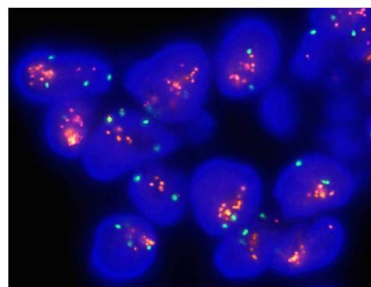
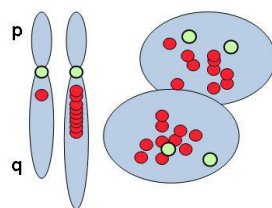
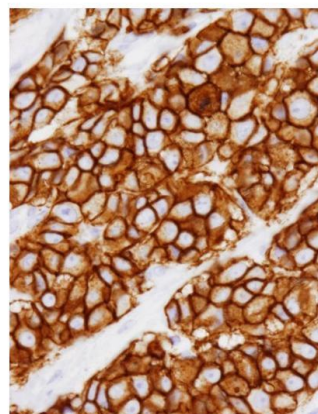


# 乳癌における HER2 病理組織標本作製および 病理診断のガイドライン（案）



1. はじめに	p. 2
2. 標本の準備	p. 2
3. Immunohistochemistry (IHC) 法	p. 2
4. <i>In situ</i> hybridization (ISH) 法 (FISH 法、DISH 法)	p. 4
5. 病理診断と HER2 分子標的治療適応のフローチャート	p. 6
6. 参考文献	p. 7

平成 23 年 11 月 16 日

社団法人 日本病理学会

はじめに

近年、悪性腫瘍に対する分子標的治療の開発が進み、その治療選択のための病理診断の重要性が増している。

乳癌における HER2 遺伝子増幅/タンパク質過剰発現は、予後因子となるばかりでなく、分子標的治療薬の標的となっている。乳癌組織における HER2 遺伝子増幅/タンパク質過剰発現の病理学的検索 (HER2 検査・病理診断) は、HER2 分子標的治療の適応を含めた乳癌治療に大きく関わってくるため、HER2 検査・病理診断の精度管理が重要となる。2007 年には ASCO (American Society of Clinical Oncology) / CAP (College of American Pathologists) から HER2 ガイドラインが発表され、国際的にも広く支持されている。

このような動向を踏まえ日本病理学会では、ここに「乳癌における HER2 検査・病理診断ガイドライン」を作成し、HER2 の適正な検査・病理診断の標準化および精度管理を行う次第である。

## 1. 標本の準備

- a. 検索対象組織：乳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、浸潤部を検索対象とする。
- 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. 標本薄切：IHC 法は 4  $\mu\text{m}$ 、FISH 法は 5  $\mu\text{m}$  が最適であり、薄切後 6 週間以内の染色が推奨される。

## 2. Immunohistochemistry (IHC) 法：HER2 タンパク質病理組織標本作製 (免疫染色)

- 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浸潤部分を確認する。
  - ③ 光学顕微鏡の 4 倍対物レンズを使用し、癌細胞の HER2 蛋白陽性像、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。

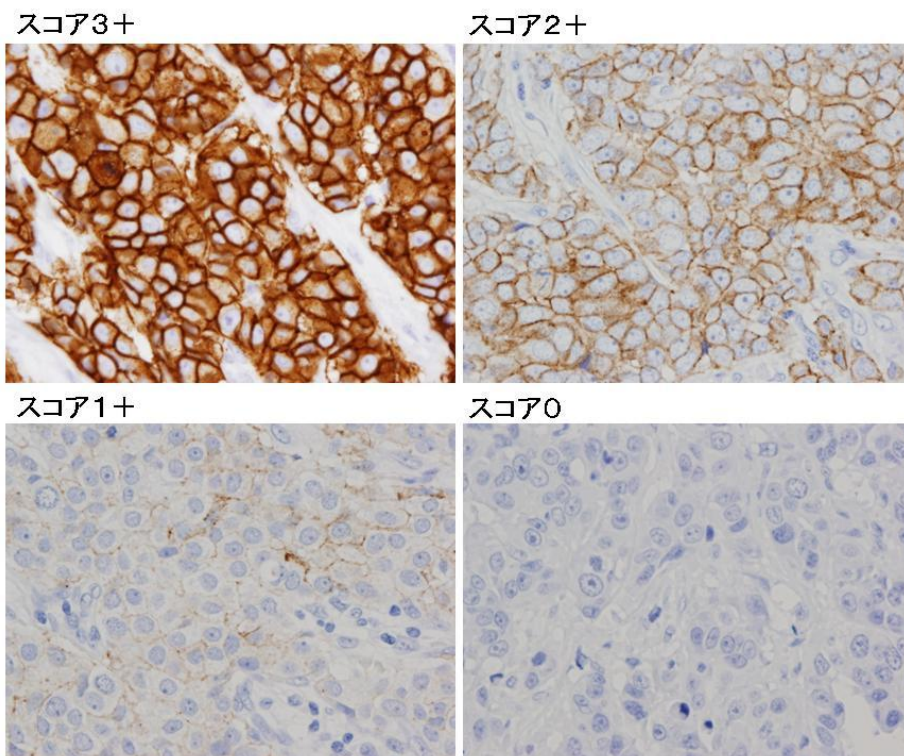
c. 判定方法：判定は、日本病理学会認定病理専門医が行う。

HER2 タンパク質過剰発現の判定は、浸潤部分の乳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、染色パターンの判定基準（表1）に従いスコア0～3+に分類し、陽性（positive）、境界域（equivocal）、陰性（negative）と判定する。

表1. IHC法の判定基準

判定	スコア	染色パターン
陽性	3+	強い完全な細胞膜の陽性染色がある癌細胞>30%
境界域 (equivocal)	2+	弱～中程度の完全な細胞膜の陽性所見がある癌細胞 $\geq$ 10%、あるいは、強い完全な細胞膜の陽性染色がある癌細胞 $\geq$ 10%～ $\leq$ 30%
陰性	1+	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 $\geq$ 10% (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、あるいは細胞膜の陽性染色がある癌細胞<10% (細胞質に限局する陽性染色は判定対象外)

図1. IHC法による染色性



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

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

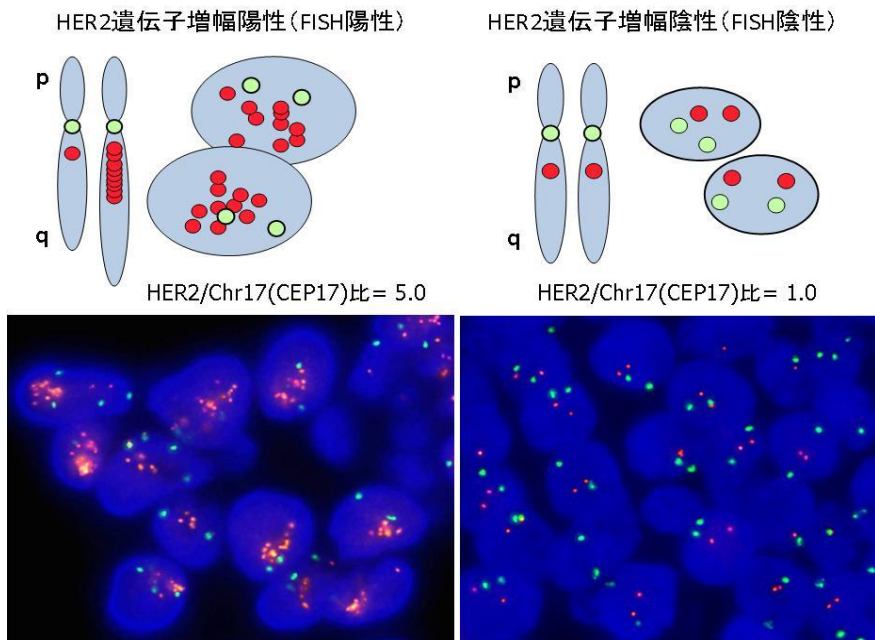
- a. 染色方法：体外診断用医薬品として市販されているプローブを用い、販売元の推奨プロトコルに従う。染色時には同時に陽性、陰性コントロールを検索する。
- b. 判定手順：
  - ① 陽性および陰性コントロールスライドの特異性および染色強度を観察し、検体や反応過程が適正か否かを判断する。
  - ② あらかじめ HE 染色標本で標本内の浸潤部分を確認する。
  - ③ IHC 法後の FISH 法検索の場合は、IHC 染色標本の染色強度を確認する。
  - ④ シグナル計数は細胞同定能力を有する観察者が行う。可能であれば複数の観察者で行い、不一致の場合は速やかに再計測をすることが望ましい。
- 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。

ISH 法の判定は、浸潤部分における 20 個の乳癌細胞での HER2・セントロメア 17 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。その結果を判定基準（表 2）に従い、陽性 (positive)、境界域 (equivocal)、陰性 (negative) と判定する。

表 2. ISH 法の判定基準

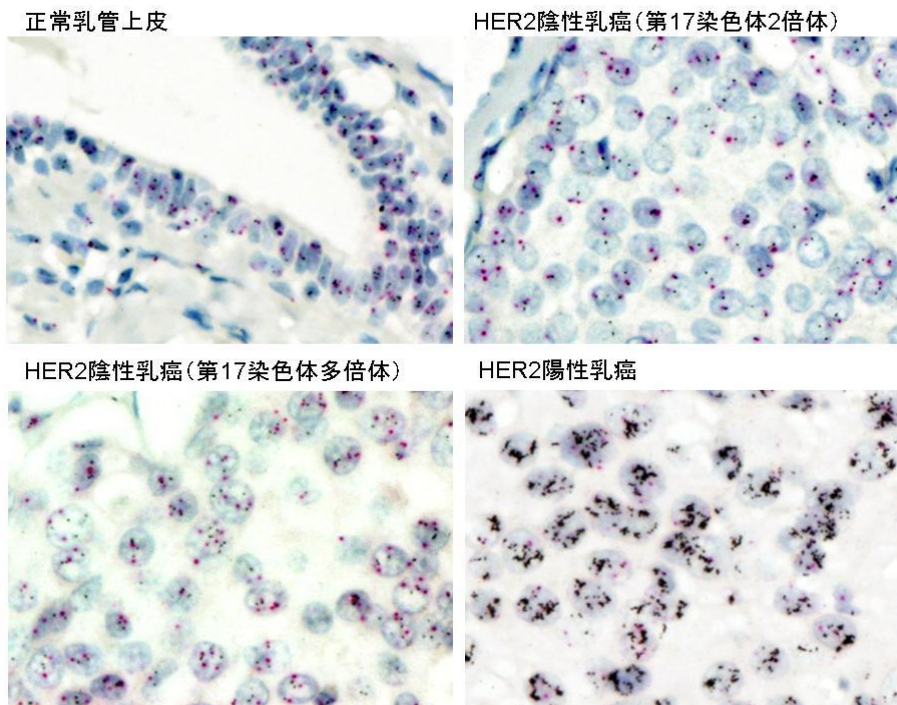
判定	内容
陽性	HER2/セントロメア17比 >2.2
境界域 (equivocal)	HER2/セントロメア17比 1.8~2.2
陰性	HER2/セントロメア17比 <1.8

図 2. FISH 法の染色性



上段は、第 17 染色体と FISH 結果の模式図。薄青棒は第 17 染色体、薄青丸は癌細胞の核を表し、オレンジは HER2 遺伝子のシグナル、緑はセントロメア 17(CEP17)のシグナルである。下段は、実際の FISH 画像で、左は HER2 増幅 (陽性) 例、右は HER2 非増幅 (陰性) 例である。

図 3. DISH 法の染色性



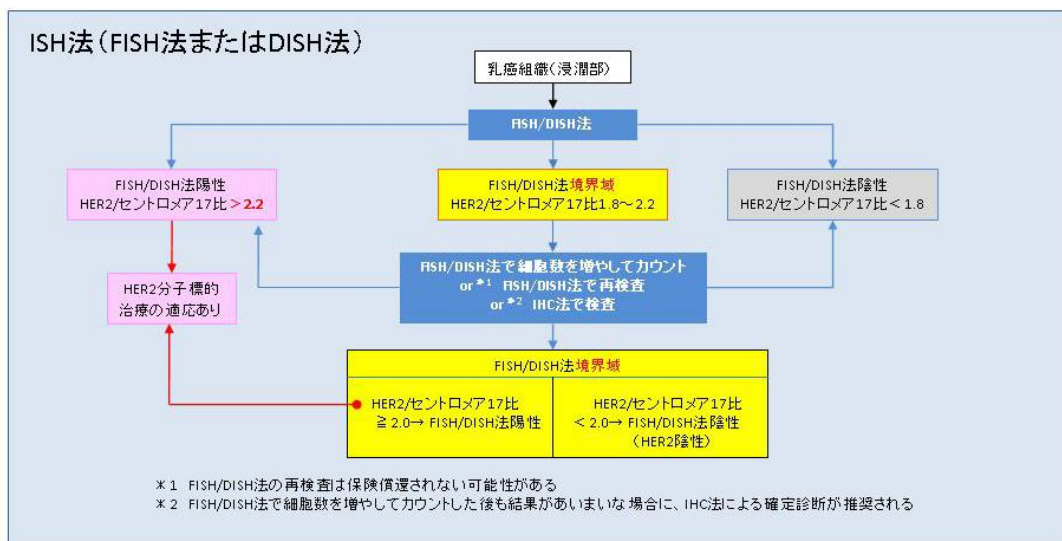
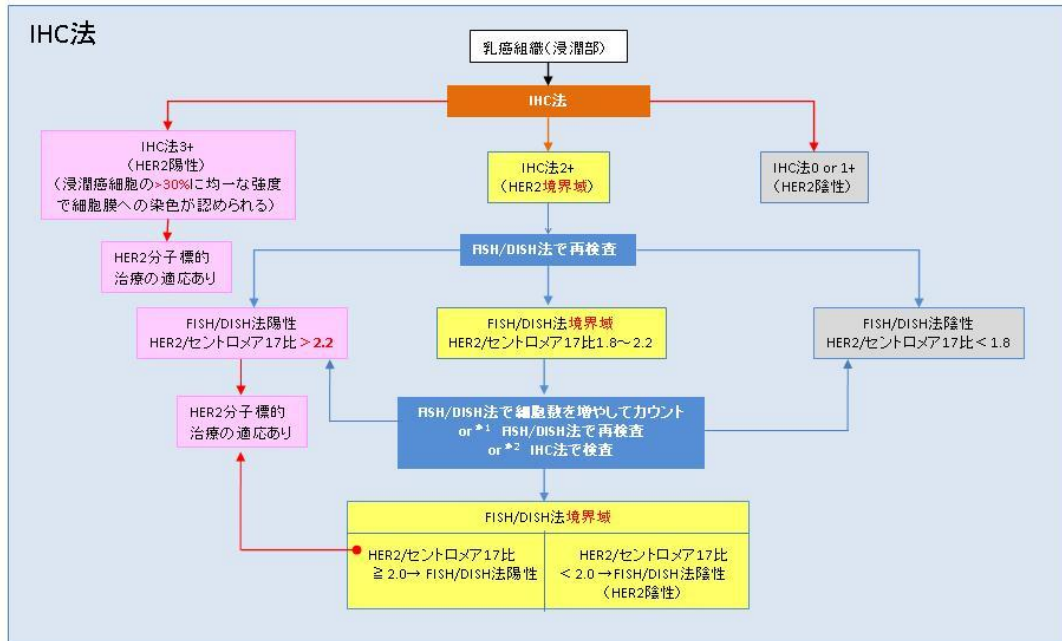
正常乳管細胞と乳癌細胞における HER2 遺伝子コピー数の例。黒は HER2 遺伝子のシグナル、赤はセントロメア 17 (CEP17) のシグナルである。



#### 4. 病理診断と HER2 分子標的治療適応のフローチャート

《HER2検査フローチャート》  
ASCO/CAP HER2検査ガイドラインに準拠

以下のフローチャートに基づきHER2分子標的治療対象症例を選択する。  
HER2検査は原則として浸潤癌を対象とする。  
IHC法2+のときは、ISH法(FISH法またはDISH法)にて再検査を行う



## 5. 参考文献

- 1) Goldstein NS, Ferkowicz M, Odish E, et al. Minimum formalin fixation time for consistent ER IHC staining of invasive carcinoma. *Am J Clin Pathol* 120: 86-92, 2003
- 2) Ellis IO, Bartlett J, Dowsett M, et al. Updated recommendations for HER2 testing in the UK. *J Clin Pathol* 57: 233-237, 2004
- 3) Wolff AC, Hammond EH, Schwartz JN, et al. ASCO/CAP guideline recommendations for HER2 testing in breast cancer. *Arch Pathol Lab Med* 131: 18-43, 2007
- 4) Umemura S, Osamura RY, Akiyama F, et al. What causes discrepancies in HER2 testing for breast cancer?: A Japanese ring study in conjunction with global standard. *Am J Clin Pathol* 130: 883-891, 2008.
- 5) Middleton LP, Price KM, Puig P, et al. Implementation of ASCO/CAP HER2 guideline recommendations in a tertiary care facility increases HER2 IHC and FISH concordance and decreases the number of inconclusive cases. *Arch Pathol Lab Med* 133: 775-780, 2009
- 6) Tsuda H, Kurosumi M, Umemura S, et al. HER2 testing on core needle biopsy specimens from primary breast cancers: interobserver reproducibility and concordance with surgically resected specimens. *BMC Cancer* 10: 534, 2010

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）  
乳癌ワーキンググループ  
増田しのぶ（日大）、津田 均（国立がん研究センター）、秋山 太（癌研）

（平成 23 年 4 月 20 日作成）