



INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR THE STUDY OF LUNG CANCER

# 免疫組織化学診断 IASLC アトラス

編集者

Yasushi Yatabe, MD, PhD

Alain C. Borczuk, MD

Wendy A. Cooper, MBBS, BSC(Med), FRCPA, PhD

Sanja Dacic, MD, PhD

Keith M. Kerr, MD, FRCPATH, FRCPE

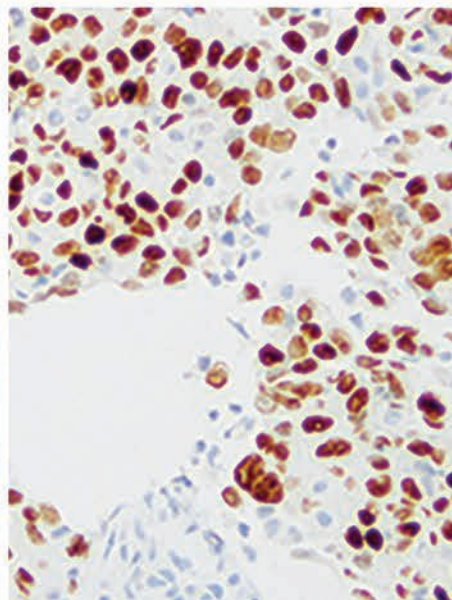
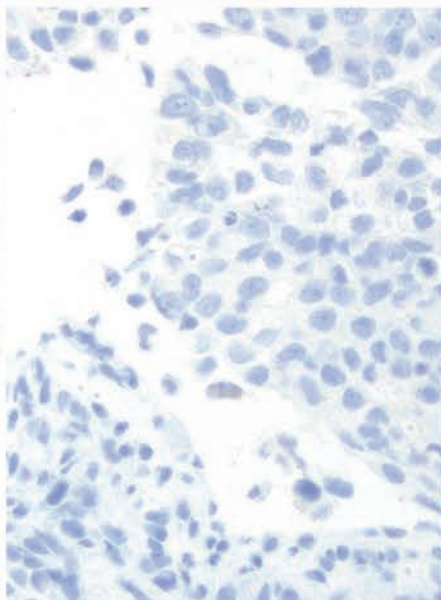
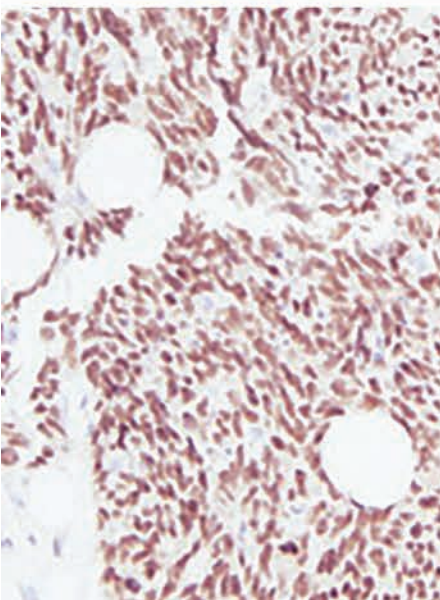
Andre L. Moreira, MD, PhD

Ming Sound Tsao, MD, FRCPC

IASLC



Conquering Thoracic Cancers Worldwide





# 免疫組織化学診断IASLCアトラス

International Association for the Study of Lung Cancer, Denver, CO, USA

編集者：

Yasushi Yatabe, MD, PhD

Alain C. Borczuk, MD

Wendy A. Cooper, MBBS, BSC(Med), FRCPA, PhD

Sanja Dacic, MD, PhD

Keith M. Kerr, BSc, MB ChB, FRCPath, Hon FRCPEd, Hon FRCSI

Andre L. Moreira, MD, PhD

Ming Sound Tsao, MD, FRCPC

IASLCオフィス：

IASLC, 999 17th Street, Suite 200, Denver, Colorado 80202, USA

[www.iaslc.org](http://www.iaslc.org)

2020年9月

10 9 8 7 6 5 4 3 2 1

ISBN：978-1-940488-07-3

著作権 © 2020 International Association for the Study of Lung Cancer  
無断転載禁止

著作権法上の例外を除き、書面による事前の承諾無しで本出版物の部分的利用、検索システムへの保存あるいは導入、あるいはすべての転載を禁止します。

出版時点における本書の情報は真実かつ正確であると確信していますが、いかなる間違いや不作為についてもIASLC、編集者、および出版者は法的責任を負いません。出版者は内容に関して明示的にも黙示的にも保証を負いません。

# 免疫組織化学診断 IASLCアトラス

編集者

YASUSHI YATABE, MD, PhD

ALAIN C. BORCZUK, MD

WENDY A. COOPER, MBBS, Bsc(Med), FRCPA, PhD

SANJA DACIC, MD, PhD

KEITH M. KERR, BSc, MB ChB, FRCPath, Hon FRCPEd, Hon FRCSI

ANDRE L. MOREIRA, MD, PhD

MING SOUND TSAO, MD, FRCPC

出版者：INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR THE STUDY OF LUNG CANCER



## 謝辞

---

International Association for the Study of Lung Cancer (IASLC) は、この免疫組織化学診断IASLCアトラスのプロジェクトに対してAgilent、AstraZeneca、Bristol Myers Squibb、Diaceutics、Merck KGaA、Darmstadt、Germany、Roche Tissue Diagnosticsからご提供いただいた寛大な資金とサポートに深く感謝します。

共編者およびすべての担当者はJillian Daigneault, PhD, Scientific Affairs Project Manager, IASLCによるプロジェクトのコーディネーションに関するサポートに深く感謝いたします。また、Terese Plattenの編集援助、Stephen Adamsの画像と合成に関する援助、Jane Olivier, President, Glacier Publishing Servicesによる本書の出版に関する援助に深く感謝いたします。

# 目次

---

貢献者.....	vi
略語.....	x
主な質問と回答要旨.....	xiv
<b>1</b> はじめに.....	1
<b>2</b> 免疫組織化学による胸部腫瘍の正確な診断の臨床的関連.....	3
<b>3</b> 免疫組織化学の原則.....	15
<b>4</b> 免疫組織化学における手法と技術.....	23
<b>5</b> 少量検体における免疫組織化学.....	33
<b>6</b> 切除された主な肺癌の分類における免疫マーカー.....	43
<b>7</b> 甲状腺転写因子-1.....	53
<b>8</b> 肺癌におけるp40およびp63の免疫組織化学.....	61
<b>9</b> サイトケラチンマーカー.....	67
<b>10</b> 神経内分泌マーカー.....	75
<b>11</b> 増殖マーカー.....	85
<b>12</b> 細胞診における免疫組織化学.....	91
<b>13</b> 肺腺癌のバリエーションに対する免疫マーカー.....	103
<b>14</b> 他の希少腫瘍のための免疫マーカー.....	113
<b>15</b> 胸部肉腫に対する免疫マーカー.....	125
<b>16</b> 転移性腫瘍との鑑別のための免疫マーカー.....	143
<b>17</b> 中皮腫および免疫組織化学.....	157
<b>18</b> 胸腺腫瘍と免疫組織化学.....	167
<b>19</b> 予測バイオマーカー検査における免疫組織化学の使用.....	175
<b>20</b> 総括.....	189
<b>21</b> 付録A：抗体リスト.....	193
<b>22</b> 付録B：マーカー.....	199

# 貢献者

---

## 編集者



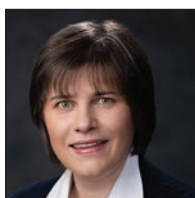
**Yasushi Yatabe, MD, PhD**  
Chief  
Department of Diagnostic Pathology  
National Cancer Center  
日本、東京



**Alain C. Borczuk, MD**  
Vice Chairman for Anatomic Pathology  
Director of Anatomic Pathology  
Chief of Thoracic Pathology  
Department of Pathology  
Weill Cornell Medicine  
米国、ニューヨーク州、ニューヨーク



**Wendy A. Cooper, MBBS, BSC(Med), FRCPA, PhD**  
Associate Professor  
Tissue Pathology and Diagnostic Oncology  
NSW Health Pathology  
Royal Prince Alfred Hospital  
オーストラリア、サウスウェールズ州、シドニー



**Sanja Dacic, MD, PhD**  
Professor  
Department of Pathology  
University of Pittsburgh Medical Center  
米国、ペンシルバニア州、ピッツバーグ



**Keith M. Kerr, BSc, MB ChB, FRCPath, Hon FRCPEd, Hon FRCSI**  
 Consultant Pathologist  
 Department of Pathology  
 Aberdeen Royal Infirmary  
 Professor of Pulmonary Pathology  
 Aberdeen University Medical School  
 英国、スコットランド、アバディーン



**Andre L. Moreira, MD, PhD**  
 Professor of Pathology  
 Director, Center of Biospecimen Research and Development (CBRD)  
 Director of Surgical Pathology and Cardiothoracic Pathology  
 New York University Langone Health  
 米国、ニューヨーク州、ニューヨーク



**Ming Sound Tsao, MD, FRCPC**  
 Pathologist, Senior Scientist, and Professor  
 M. Qasim Choksi Chair in Lung Cancer  
 Translational Research  
 Princess Margaret Cancer Centre, University Health Network  
 Department of Laboratory Medicine and Pathobiology  
 University of Toronto  
 カナダ、オンタリオ州、トロント

## 執筆者

**Mary Beth Beasley, MD**  
 Professor of Pathology  
 Ichan School of Medicine at Mount Sinai  
 米国、ニューヨーク州、ニューヨーク

**Sabina Berezowska, MD**  
 Associate Professor  
 Institute of Pathology  
 Lausanne University Hospital and  
 Lausanne University  
 スイス、ローザンヌ

**Lukas Bubendorf, MD**  
 Professor and Head of Cytopathology  
 Institute of Medical Genetics and Pathology  
 University Hospital Basel  
 スイス、バーゼル

**Teh-Ying Chou, MD, PhD, MBA**  
 Professor and Chair  
 Department of Pathology and Laboratory  
 Medicine  
 Taipei Veterans General Hospital  
 台湾、台北

**Jin-Haeng Chung, MD, PhD**  
 Professor  
 Department of Pathology and Translational  
 Medicine  
 Seoul National University Bundang Hospital  
 韓国、ソウル

**Balazs Halmos, MD**  
 Section Chief, Thoracic/Head and Neck  
 Oncology  
 Director, Clinical Cancer Genomics  
 Professor Clinical Medicine/Albert Einstein  
 College of Medicine  
 米国、ニューヨーク、ブロンクス

**Yuchen Han**  
 Professor  
 Department of Pathology  
 Shanghai Chest Hospital  
 中国、上海

**Fred Hirsch, MD, PhD**

Executive Director  
Center for Thoracic Oncology  
Mount Sinai Cancer Center, Mount Sinai  
Health System  
Professor of Medicine  
Ichan School of Medicine  
Joe Lowe and Louis Price Professor of Medicine  
Associate Director  
Tisch Cancer Institute  
米国、ニューヨーク州、ニューヨーク

**David M. Hwang, BSc, MD, PhD, FRCPC**

Chief, Department of Laboratory Medicine and  
Molecular Diagnostics  
Sunnybrook Health Sciences Centre  
Professor, Department of Laboratory Medicine  
and Pathology  
University of Toronto  
カナダ、オンタリオ州、トロント

**Deepali Jain, MD, FIAC**

Additional Professor  
Department of Pathology  
All India Institute of Medical Sciences  
インド、ニューデリー

**Philippe Joubert, MD, PhD**

Institut Universitaire de Cardiologie et de  
Pneumologie de Quebec  
Universite Laval  
カナダ、ケベック州、ケベック

**Sylvie Lantuejoul, MD, PhD**

Department of Biopathology  
Research Pathology Platform CRCL  
Centre de Lutte Contre le Cancer  
UNICANCER Leon Berard  
Universite Grenoble Alpes  
フランス、グルノーブル

**Fernando Lopez-Rios, MD, PhD, FIAC**

Professor of Pathology & Molecular Pathology  
Pathology-Targeted Therapies Laboratory  
HM Hospitales  
Universidad CEU San Pablo  
スペイン、マドリード

**Diasuke Matsubara, MD, PhD**

Department of Pathology  
Division of Integrative Pathology  
Jichi Medical University  
日本、栃木県、下野市

**Yuko Minami, MD, PhD**

Director, Pathology Department  
National Organization Hospital Ibarakihigashi  
National Hospital  
The Center of Chest Diseases and Severe Motor  
and Intellectual Disease  
日本、茨木

**Mari Mino-Kenudson, MD**

Professor of Pathology  
Harvard Medical School  
Massachusetts General Hospital  
米国、マサチューセッツ州、ボストン

**Andrew G. Nicholson, DM, FRCPath**

Consultant Histopathologist  
Royal Brompton and Harefield Hospitals NHS  
Foundation Trust  
Honorary Professor of Respiratory Pathology,  
National Heart and Lung Division  
Imperial College  
英国、ロンドン

**Masayuki Noguchi, MD**

Professor of Diagnostic Pathology  
Faculty of Medicine  
University of Tsukuba  
日本、つくば

**Mauro Papotti, MD**

Professor of Pathology  
Department of Oncology  
University of Turin  
イタリア、トリノ

**Harvey I. Pass, MD**

Stephen E. Banner Professor of Thoracic  
Oncology  
Director, Division of General Thoracic Surgery  
Vice-Chair, Research, Cardiothoracic Surgery  
NYU Langone Health  
米国、ニューヨーク州、ニューヨーク

**Claudia Poleri, MD**

Office of Pathology Consultants  
アルゼンチン、ブエノスアイレス

**Anja C. Roden, MD**

Professor of Laboratory Medicine and  
Pathology  
Consultant  
Department of Laboratory Medicine and  
Pathology  
Mayo Clinic  
米国、ミネソタ州、ロチェスター



**Prudence A. Russell, MBBS (Hons), FRCPA**

Associate Professor  
St. Vincent's Hospital and the University of  
Melbourne  
オーストラリア、ビクトリア州、メルボルン

**Kurt A. Schalper, MD, PhD**

Department of Pathology  
Yale School of Medicine  
米国、コネチカット州、ニューヘブーン

**Lynette M. Sholl, MD**

Department of Pathology  
Brigham and Women's Hospital and Harvard  
Medical School  
米国、マサチューセッツ州、ボストン

**Erik Thunnissen, MD, PhD**

Amsterdam University Medical Center VUmc  
アムステルダム、オランダ

**William Travis, MD**

Attending Thoracic Pathologist  
Department of Pathology  
Memorial Sloan Kettering Cancer Center  
米国、ニューヨーク州、ニューヨーク

**Ignacio I. Wistuba, MD**

Professor and Chair  
Department of Translational Molecular  
Pathology  
The University of Texas MD Anderson  
Cancer Center  
米国、テキサス州、ヒューストン

**Akihiko Yoshida, MD, PhD**

Department of Diagnostic Pathology  
National Cancer Center Hospital  
日本、東京

## 略語

---

本書では以下の略語が使用されています。

- 3-D : three-dimensional (3次元)  
ABC : avidin-biotin complex (アビジン-ビオチン複合体)  
AC : atypical carcinoid (非定型カルチノイド)  
ADC : adenocarcinoma (腺癌)  
AEC : 3-amino-9-ethylcarbazole (3-アミノ-9-エチルカルバゾール)  
AFP :  $\alpha$ -fetoprotein ( $\alpha$ -フェトプロテイン)  
ALK : anaplastic lymphoma kinase (未分化リンパ腫キナーゼ)  
AMP : Association for Molecular Pathology  
AP : acid [or alkaline] phosphatase (酸性[またはアルカリ性]フォスファターゼ)  
AUC : area under the curve (曲線下面積)  
BALT : bronchial-associated lymphoid tissue (気管支随伴リンパ組織)  
BAP1 : BRCA1-associated protein 1 (BRCA1関連タンパク質1)  
BET : bromodomain and extraterminal (ブロモドメインおよびエクストラ末端)  
 $\beta$ -HCG : beta human chorionic gonadotropin ( $\beta$ -ヒト絨毛性ゴナドトロピン)  
BRAF : B-raf proto-oncogene (B-raf プロトオンコジーン)  
BRD : bromodomain and extraterminal (BET) domain-containing protein  
(ブロモドメインおよびエクストラ末端(BET)ドメイン含有タンパク質)  
CA IX : carbonic anhydrase IX (炭酸脱水酵素IX)  
CAMTA1 : calmodulin-binding transcription activator 1 (カルモジュリン結合転写活性化因子1)  
CAP : College of American Pathologists  
CDK4 : cyclin-dependent kinase 4 (サイクリン依存性キナーゼ4)  
CE : *Conformité Européenne*  
CEA : carcinoembryonic antigen (癌胎児抗原)  
CK5/6 : サイトケラチン5/6  
CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute  
CMPT : ciliated muconodular papillary tumor (肺線毛性粘液結節性乳頭状腫瘍)  
CMV : cytomegalovirus (サイトメガロウイルス)  
CRC : colorectal cancer (大腸癌)  
CSA : catalyzed signal amplification (触媒シグナル増幅)  
CSA-II : catalyzed signal amplification (触媒シグナル増幅-II)  
CT : computed tomography (コンピューター断層撮影)  
ctDNA : circulating-tumor DNA (循環腫瘍DNA)  
DAB : 3,3'-diaminobenzidine (3,3'-ジアミノベンジジン)

- DAPI : 4',6-diamidino-2-phenylindole (4',6-ジアミジノ-2-フェニルインドール)
- EBUS-FNA : endoscopic ultrasound-guided transbronchial fine-needle aspiration (経気管支の超音波気管支内視鏡下穿刺吸引細胞診)
- ECT2 : epithelial cell transforming (上皮細胞形質転換2)
- EDTA : ethylenediaminetetraacetic acid (エチレンジアミン四酢酸)
- EGFR : epidermal growth factor receptor (上皮成長因子受容体)
- EHE : epithelioid hemangioendothelioma (類上皮血管内皮腫)
- ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay (酵素結合免疫吸着検査法)
- EMA : epithelial membrane antigen (上皮膜抗原)
- EQA : external quality assessment (外部品質評価)
- ER : estrogen receptor (エストロゲン受容体)
- ETV4 : ETS variant transcription factor 4 (ETS変異転写因子4)
- EZH2 : enhancer of zeste homolog 2 (zesteホモログ2エンハンサー)
- FDA : U.S. Food and Drug Administration (米国食品医薬品局)
- FFPE : formalin-fixed paraffin-embedded (ホルマリン固定パラフィン包埋)
- FISH : fluorescence in situ hybridization (蛍光 in situ ハイブリダイゼーション)
- FNA : fine-needle aspiration (穿刺吸引)
- FOB : flexible fiberoptic bronchoscopy (フレキシブルファイバー気管支鏡検査)
- GCDFP : gross cystic disease fluid protein (総嚢胞性疾患流体タンパク質)
- GFAP : glial fibrillary acidic protein (グリア細胞線維性酸性タンパク質)
- GI : gastrointestinal (胃腸)
- H&E : hematoxylin and eosin (ヘマトキシリン・エオジン)
- hASH1 : human achaete-scute homolog-1 (ヒトachaete-scuteホモログ1)
- HB<sub>s</sub> : hepatitis B surface antigen (B型肝炎表面抗原)
- HCC : 肝細胞癌
- HepPar1 : 肝細胞/パラフィン1
- HER2 : human epidermal growth factor receptor 2 (ヒト上皮成長因子受容体2)
- HIAR : heat-induced antigen retrieval (熱誘導抗原回収)
- HiDAC : high-dose cytarabine (高用量シタラビン)
- HMW : high molecular weight (高分子)
- HNF4 $\alpha$  : hepatocyte nuclear factor 4 alpha (肝細胞核因子4 $\alpha$ )
- HPV : human papilloma virus (ヒトパピローマウイルス)
- HQ : 3-hydroxy-2-quinoxaline (3-ヒドロキシ-2-キノキサリン)
- HRP : horseradish peroxidase (西洋ワサビペルオキシダーゼ)
- IC : immune cell (免疫細胞)
- ICAPC : immunohistochemistry critical assay performance control
- IFN- $\gamma$  : interferon gamma (インターフェロンガンマ)
- IHC : immunohistochemistry (免疫組織化学)
- IL-8 : interleukin-8 (インターロイキン-8)
- IMA : invasive mucinous adenocarcinoma (浸潤性粘液性腺癌)
- IMT : inflammatory myofibroblastic tumor (炎症性筋繊維芽細胞性腫瘍)
- INI1 : integrase interactor 1 (インテグラーゼインタラクター1)
- INSM1 : insulinoma-associated protein (インスリノーマ関連タンパク質1)
- irPRC : immune-related pathologic response criteria (免疫関連病理学的応答基準)
- ISH : in situ hybridization (in situ ハイブリダイゼーション)
- IVD : in vitro diagnostic (体外診断用医薬品)
- KRAS : Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog (Kirsten ラット肉腫ウイルス癌遺伝子ホモログ)
- LAG-3 : lymphocyte-activation gene 3 (リンパ球活性化遺伝子3)

- LCA : leukocyte common antigen (白血球共通抗原)
- LCNEC : large cell neuroendocrine carcinoma (大細胞神経内分泌癌)
- LDT : laboratory-developed test (薬事未承認検査)
- LMW : low molecular weight (低分子)
- LSAB : labeled streptavidin-biotin (標識ストレプトアビジン-ビオチン)
- MDM2 : mouse double minute 2 homolog/E3 ubiquitin-protein ligase (マウス二重微小染色体2ホモログ/E3ユビキチンタンパク質リガーゼ)
- MEK : mitogen-activated protein kinase (MAPK) kinase (分裂促進因子活性化プロテインキナーゼ (MAPK) キナーゼ)
- MET : MET proto-oncogene (METプロトオンコジーン)
- MIBI : multiple ion beam-based ionization (複合イオンビームベースのイオン化)
- MiTF : microphthalmia transcription factor (小眼球症関連転写因子)
- MPM : 悪性胸膜中皮腫
- MPNST : malignant peripheral nerve sheath tumor (悪性胸膜中皮腫)
- MPR : major pathologic response (病理学的反応)
- mRNA : messenger RNA (メッセンジャーRNA)
- MSA : muscle specific actin (筋肉特異的アクチン)
- MSI : microsatellite instability (マイクロサテライト不安定性)
- MTAP : methylthioadenosine phosphorylase (メチルチオアデノシンホスホリラーゼ)
- MYB : myeloblastosis proto-oncogene, transcription factor (骨髄芽球症プロトオンコジーン転写因子)
- NCAM1 : neural cell adhesion molecule 1 (神経細胞接着分子1)
- NE : neuroendocrine (神経内分泌)
- NEC : neuroendocrine carcinoma (神経内分泌癌)
- NEN : neuroendocrine neoplasm (神経内分泌腫瘍)
- NGS : next-generation sequencing (次世代シーケンシング)
- NKX3.1 : NK3 homeobox 1 gene (NK3ホメオボックス1遺伝子)
- NOS : not otherwise specified (特定不能)
- NRG1 : neuregulin-1 (ニューレグリン1)
- NSCC : non-small cell carcinoma (非小細胞癌)
- NSCLC : non-small cell lung carcinoma (非小細胞肺癌)
- NSE : neuron-specific enolase (ニューロン特異的エノラーゼ)
- NTRK : neurotrophic tyrosine receptor kinase gene (神経栄養因子受容体チロシンキナーゼ)
- NUT : nuclear protein in testis (精巣核タンパク質)
- OTP : orthopedia homeobox protein (Orthopediaホメオボックスタンパク質)
- P13KCA : phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit  $\alpha$  gene (ホスファチジルイノシトール4,5-ビスリン酸-3キナーゼ触媒サブユニット  $\alpha$  遺伝子)
- PAS : periodic acid-Schiff (過ヨウ素酸シッフ反応)
- PBMC : peripheral blood mononuclear cell (ヒト末梢血単核細胞)
- PCNA : proliferating cell nuclear antigen (増殖細胞核抗原)
- PCR : polymerase chain reaction (ポリメラーゼ連鎖反応)
- PD-1 : programmed cell death protein-1 (プログラム細胞死タンパク質-1)
- PD-L1 : programmed death ligand-1 (プログラム細胞死リガンド-1)
- PEComa : perivascular epithelioid cell tumor (血管周囲類上皮細胞腫瘍)
- PET : positron emission tomography (陽電子放出断層撮影)
- PMA : phorbol myristate acetate (ホルボールミリスチン酸アセテート)
- PR : progesterone receptor (プロゲステロン受容体)
- PSA : prostatic-specific antigen (前立腺特異抗原)
- PSAP : prostatic-specific acid phosphatase (前立腺特異的酸性フォスファターゼ)

PSMA : prostate specific membrane antigen (前立腺特異的膜抗原)  
RB : retinoblastoma (網膜芽腫)  
RET : ret proto-oncogene (retプロトオンコジーン)  
ROC : receiver operating characteristic (受信者動作特性)  
ROS1 : c-ros oncogene (c-ros癌遺伝子1)  
RT-PCR : reverse-transcriptase polymerase chain reaction (逆転写ポリメラーゼ連鎖反応)  
SALL4 : spalt-like transcription factor 4またはsal-like protein 4  
(spalt様転写因子4またはsal様タンパク質4)  
SCC : small cell carcinoma (小細胞癌)  
SCLC : small cell lung carcinoma (小細胞肺癌)  
SFT : solitary fibrous tumor (孤立性線維性腫瘍)  
SLBx : surgical lung biopsy (外科肺生検)  
SMA : smooth muscle actin (平滑筋アクチン)  
SP-A, SP-B : surfactant protein A, surfactant protein B (サーファクタントタンパク質A、サーファクタン  
トタンパク質B)  
SQCC : squamous cell carcinoma (扁平上皮癌)  
STAS : spread through alveolar spaces (肺腺癌における空気空間)  
STAT6 : signal transducer and activator of transcription 6 (シグナル伝達兼転写活性化因子6)  
SUVmax : maximum standardized uptake value (標準化吸収値)  
TBBx : transbronchial biopsy (経気管支生検)  
TBNA : transbronchial needle aspiration (経気管支針吸引)  
TC : typical carcinoid (定型カルチノイド)  
TdT : terminal deoxynucleotidyl transferase (末端デオキシヌクレオチド転移酵素)  
TFE3 : transcription factor E3 (転写因子E3)  
TIM-3 : mucin domain-containing protein 3 (ムチンドメイン含有-3タンパク質)  
TKI : tyrosine kinase inhibitor (チロシンキナーゼ阻害薬)  
TLE1 : transducin-like enhancer protein 1 (トランスデューシン様エンハンサータンパク質1)  
TMB : tumor mutational burden (腫瘍突然変異負荷)  
TNBC : triple-negative breast carcinoma (トリプルネガティブ乳癌)  
TPS : tumor proportion score (腫瘍比スコア)  
TTF1 : thyroid transcription factor-1 (甲状腺転写因子-1)  
UIP : usual interstitial pneumonia (間質性肺炎)  
UK NEQAS : U.K. National External Quality Assessment Service  
VEGF : vascular endothelial growth zinc-finger E-box binding protein factor (血管内皮細胞増殖因子)  
WHO : World Health Organization (世界保健機関)  
WT : wild type (野生型)  
WT1 : Wilms tumor protein (ウィルムス腫瘍タンパク質)  
ZEB1 : zinc-finger E-box binding protein (亜鉛フィンガーEボックス結合タンパク質1)



# 主な質問と回答要旨

タイトル	主な質問	回答要旨
<b>第5章</b>		
少量検体における免疫組織化学	<a href="#">5.1 免疫組織化学 (IHC) はすべての少生検で実施すべきか？</a>	初期診断のアプローチは、病理医の形態学的所見により進める必要があります。生検で扁平上皮癌（ケラチン化など）や腺癌（腺形成など）の形態的分化が明確に確認できる場合は、病理医はそれに応じて診断を実施することが推奨され、確認のためのIHC実施は義務付けられていません。
	<a href="#">5.2 非小細胞癌 (NSCC) の分類では、どのような場合にIHCを実施すべきか？</a>	IHCは、低分化癌（多くの場合、充実性増殖パターン）で実施する必要があります。
	<a href="#">5.3 NSCCを分類する最初のマーカーとして最適なものは？</a>	p40と甲状腺転写因子-1 (TTF1) の組み合わせが、NSCCを腺癌と扁平上皮癌に区分するのに最適な感度と特異性を備えています。
	<a href="#">5.4 NSCCの分類に役立つ他の腫瘍マーカーとは？</a>	ナプシンAおよびサイトケラチン5/6 (CK5/6) は、一部のNSCC, NOS (特定不能) で分類を改善することができます。低分化癌が、TTF1, p40, CK5/6, ナプシンAで陰性の場合、パンケラチンを追加する必要があります。
	<a href="#">5.5 神経内分泌腫瘍に最良のマーカーとは？</a>	NE表現型を確認するには、NEマーカー（クロモグラニン、シナプトフィジン、CD56、インスリノーマ関連タンパク質1 (INSM1)）のパネルを追加する必要があります。さらに、増殖マーカーは、少生検に著しい挫滅がある場合に有用です。
	<a href="#">5.6 少生検で困難な診断シナリオとは？</a>	細胞の保存不良、挫滅、歪みなど、少生検におけるアーチファクトにより、腫瘍細胞の形態的特徴が見えなくなり、良性構造の解釈を誤ってしまう可能性があります。組織染色と免疫組織化学染色を注意深く相関させることが必要です。
	<a href="#">5.7 予測バイオマーカー検査結果を最適化するには、生検検体をどのように処理すべきか？</a>	各検査室で組織の活用に関する詳細なプロトコルを確立して、予測マーカーを決定する必要があります。
<b>第6章</b>		
切除した主な肺癌の分類における免疫マーカー	<a href="#">6.1 腺癌と扁平上皮癌を区別するうえで&lt;171&gt;、通常診療で使用するマーカーの最適な組み合わせとは？</a>	日常的には、TTF1とp40はたいいていの場合、NSCCを細分類することができるので、形態的特性やNE形態を定義する必要もありません。転移や希有な変異が疑われる場合には、このパネルを拡大することもできます。
	<a href="#">6.2 腺扁平上皮癌の診断における免疫マーカーの役割とは？</a>	TTF1およびp40のIHCは、腺扁平上皮癌の診断において2つの異なる腫瘍細胞集団をハイライトする場合に有用です。
	<a href="#">6.3 肉腫様癌におけるIHCの有用性とは？</a>	サイトケラチンの免疫反応は、多形性癌における悪性の紡錘細胞や巨細胞癌のパターンを裏付けるのに役立ちます。希有なサブタイプのIHCにより、異種成分や、芽細胞腫における胎児型腺癌の成分が確認できます。
	<a href="#">6.4 巨細胞癌の診断における&lt;178&gt;免疫組織化学の役割とは？</a>	TTF1、ナプシンA、または <208/>p40染色を伴わないムチカルミン陰性の未分化癌では、SMARCA4欠損癌を考慮したうえで、巨細胞癌の診断を行うことができます。

タイトル	主な質問	回答要旨
<b>第7章</b>		
甲状腺転写因子-1	<a href="#">7.1 TTF1クローン間で肺腺癌に染色上の違いはあるか？</a>	TTF1の染色性能はクローン間で異なります。最も頻繁に使用される抗体の中で、8G7G3/1は肺腺癌を同定するための最も特異的な抗体です。
	<a href="#">7.2 どの程度のTTF1染色であれば陽性の検査結果と判断されますか？</a>	TTF1の局所的な陽性反応は、適切な臨床的背景においては肺腺癌を示す陽性反応と考えられますが、最適なカットオフ値はクローンによって異なります。
	<a href="#">7.3 TTF1の免疫染色では解析前に考慮すべき事項はあるか？</a>	TTF1免疫染色に関していくつかの特異的な解析前の注意点があります。主に、アルコールベースの固定液で固定した検体や、ある種の脱灰剤を使用した検体では、染色の減少や消失がみられます。
<b>第8章</b>		
肺癌におけるp40およびp63の免疫組織化学	<a href="#">8.1 どのような場合にp63ではなくp40を使用すべきか？</a>	形態学的に未分化の扁平上皮癌の同定においてはp40がp63よりも優れた精度を示すため、p40を使用すべきです。
	<a href="#">8.2 どのような場合にp40ではなくp63を使用すべきか？</a>	腫瘍の鑑別診断において精巣核タンパク質 (NUT) 癌が考慮される場合、p40よりもp63の方が有用であると考えられます。
	<a href="#">8.3 どの程度のp40/p63陽性反応を陽性とみなすべきか？</a>	通常、扁平上皮癌ではp40 (およびp63) に対してびまん性の強い陽性反応が見られ、核の少なくとも50%での発現は陽性とみなすべきです。
<b>第9章</b>		
サイトケラチンマーカー	<a href="#">9.1 パンサイトケラチン染色とは何か、肺癌の診断におけるその役割とは？</a>	パンサイトケラチン染色は、腫瘍が形態学的に未分化である場合、癌の正確な診断を確定できます。
	<a href="#">9.2 CK5またはCK5/6は、肺の扁平上皮癌に対して高感度かつ特異的なマーカーか？</a>	CK5/6は十分な感度と特異性を持たないため、肺扁平上皮癌の診断に単独で用いるべきではありません。
	<a href="#">9.3 肺腺癌と扁平上皮癌の鑑別にサイトケラチン7を使用すべきか？</a>	CK7は肺腺癌と扁平上皮癌との鑑別に用いるべきではありません。
	<a href="#">9.4 CK7はびまん性に陽性だが、TTF1およびp40は陰性であるNSCCは、「おそらく腺癌である」とみなすべきか？</a>	CK7単独では、肺腺癌の診断を確定するには不十分です。
	<a href="#">9.5 CK7は肺腺癌と中皮腫を鑑別するのに有用な染色体か？</a>	CK7は肺腺癌と悪性中皮腫を鑑別できません。
	<a href="#">9.6 小細胞肺癌 (SCLC) の染色には、どのサイトケラチン抗体が好ましいか？</a>	SCLCを認識するのに使用するには、パンサイトケラチン抗体が好ましいです。
	<a href="#">9.7 肺癌の診断におけるCK20の有用性とは？</a>	CK20が陽性であっても、肺原発の粘液性腺癌を除外することはできません。
	<a href="#">9.8 中皮腫にはどのサイトケラチン抗体を使用すべきか？</a>	パンサイトケラチンおよびCK5/6は、他の中皮腫マーカーと併せて、中皮腫の診断に有用です。
	<a href="#">9.9 胸腺腫の診断におけるサイトケラチンの役割とは？</a>	パンサイトケラチンは、胸腺腫と他の縦隔病変との鑑別診断に非常に有用です。
<b>第10章</b>		
神経内分泌マーカー	<a href="#">10.1 NE腫瘍の分類におけるNE形態を裏付けるためにどのようなIHCマーカーが有用か？</a>	クロモグラニン、シナプトフィシン、CD56、INSM1は、NEの形態を裏付ける有用なNEマーカーです。
	<a href="#">10.2 神経内分泌腫瘍 (NEN) の鑑別診断における腫瘍の分類にはどの非NEマーカーが役立つか？</a>	NENsでは、高分子ケラチンではなくパンケラチンと低分子ケラチンが陽性となる可能性があります。
	<a href="#">10.3 NEマーカーはどのような場合にNSCCに適用すべきか？</a>	NEマーカーは、NE分化の形態学的特徴が認められる場合にのみ用いるべきです。NEの形態を評価するのが困難な少量のサンプルでは、2つ以上のマーカーが陽性であれば、より高い特異性が得られる可能性があります。

タイトル	主な質問	回答要旨
<b>第11章</b>		
増殖マーカー	<a href="#">11.1 増殖マーカーはどのような場合に診断に用いるべきか？</a>	Ki-67などの増殖マーカーは、破碎された保存状態の良くない細胞が高悪性度腫瘍に似ていることがあるため、カルチノイド腫瘍と高悪性度NE癌の鑑別を補助するために、小規模な破碎生検や細胞診サンプルで有用です。増殖マーカーは、原発性胸部NE腫瘍やその他の胸部腫瘍のルーチン診断評価には必要ありません。
	<a href="#">11.2 定型カルチノイド腫瘍と非定型カルチノイド腫瘍の鑑別におけるKi-67の役割とは？</a>	定型カルチノイド腫瘍と非定型カルチノイド腫瘍の鑑別におけるKi-67のルーチン評価の役割は現在のところ確立されていません。
	<a href="#">11.3 生検標本と外科標本における増殖指数の間にはどの程度の一致があるか？</a>	小生検と切除標本間のKi-67増殖指数の一致については、十分に特徴づけられていません。
	<a href="#">11.4 NSCCにおけるKi-67の予後的役割とは？</a>	NSCCの予後マーカーとしてのKi-67の評価には、確立された臨床的役割はありません。
	<a href="#">11.5 Ki-67免疫組織化学的抗体の重要性とは？</a>	MIB-1クローンは、Ki-67の評価に最も頻繁に使用される抗体ですが、肺腫瘍における異なるクローンを比較したデータはほとんどありません。
	<a href="#">11.6 Ki-67はどのように評価されるか？</a>	胸部腫瘍において、Ki-67を評価するための標準化されたアプローチは確立されていません。
<b>第12章</b>		
細胞診における免疫組織化学	<a href="#">12.1 次の細胞診サンプルのうち、免疫染色に最適なものはどれか？セルブロック、風乾、エタノール固定の塗抹標本</a>	セルブロック、エタノール固定スライド、風乾スライドなどの細胞診の調製はすべて、基本的に免疫染色に使用できます。ホルマリン固定のセルブロックは最も簡単で、最もよく使用されます。免疫染色細胞診標本、特に非セルブロック標本では、厳密なプロトコルの最適化、検証、品質管理が必要です。
	<a href="#">12.2 細胞診肺癌標本における免疫組織化学的バイオマーカー予測検査の信頼性はどの程度か？</a>	細胞診標本はプログラム細胞死リガンド1 (PD-L1)、未分化リンパ腫キナーゼ (ALK)、c-ros癌遺伝子1 (ROS1) の予測的IHCに使用でき、現在推奨されている標本はセルブロックです。非セルブロックのスライドにおけるこれらの予測的IHCに関する限定的なデータは有望ですが、さらなる確認が必要です。
<b>第13章</b>		
肺腺癌のバリエーションに対する免疫マーカー	<a href="#">13.1 浸潤性粘液性腺癌の免疫プロファイルとは？</a>	IMAは、CDX2および肝細胞核因子4 $\alpha$ (HNF4 $\alpha$ )などの腸分化マーカーやCK7を発現することが多いですが、TTF1やナプシンAの発現は限られています。
	<a href="#">13.2 免疫染色はIMAの診断に有用か？</a>	IHCは、IMAと非悪性腫瘍および非IMA肺腺癌を鑑別するのに役立ちます。しかし、IMAと肺外の原発腫瘍、特に上部消化 (G) 管や膵胆管の原発腫瘍からの転移との鑑別は、極めて困難であると考えられます。
	<a href="#">13.3 肺コロイド腺癌の免疫プロファイルとは？</a>	IHCのパネル (CK7、CK20、TTF1、ナプシンA、CDX2、その他の肺外部位特異的マーカー) は、肺コロイド腺癌と肺外部位に転移した粘液性腺癌とを鑑別するのに有用です。
	<a href="#">13.4 腸型肺腺癌と転移性大腸腺癌の鑑別に最適なIHCパネルとは何か？</a>	IHCのパネル (CK7とSATB2を含む) は、腸型肺腺癌と転移性大腸腺癌の鑑別に役立つ可能性があります。
	<a href="#">13.5 低悪性度および高悪性度の胎児性肺腺癌の免疫プロファイルとは？</a>	低悪性度の胎児性肺腺癌は $\beta$ -カテニンの核局在異常を特徴とし、典型的にはmoruleに認められますが、高悪性度の胎児性肺腺癌は $\alpha$ -フェトプロテイン、グリビカン3、およびまたはSal様タンパク質4 (SALL4)などの癌胎児性タンパク質をしばしば発現します。さらに、TTF1およびPAX8などのIHCのパネルは、胎児性肺腺癌を転移性子宮内膜腺癌と鑑別するために必要な場合があります。
<b>第14章</b>		
他の希少腫瘍のための免疫マーカー	<a href="#">14.1 IHCは肺胞腺腫の診断に役立つか？</a>	主にヘマトキシリン・エオジン (H&E) 診断においてですが、IHCは、腫瘍性肺細胞および肺胞腺腫の間葉系間質を強調するのに有効です。
	<a href="#">14.2 肺線毛性粘液結節性乳頭状腫瘍 (CMPT) の診断において、p40 IHCは腺癌と区別する役割を果たしているか？</a>	p40、p63、CK5/6などの基底細胞マーカーは、CMPT内の二重上皮細胞層を識別するのに役立ちます。

タイトル	主な質問	回答要旨
	<a href="#">14.3 NUT癌の免疫プロファイルとは？</a>	NUTの発現以外にも、ケラチンと基底細胞マーカーがしばしば発現しますが、TTF1と上皮膜抗原(EMA)も見られることがあります。
	<a href="#">14.4 NUT癌のNUT発現のパターンとは？</a>	腫瘍細胞の50%以上に見られる核スペckルパターンは、NUT癌の特徴であり、診断に役立ちます。NUT免疫染色は感度が高く(87%)、特異的です(精上皮腫の除外後は100%)。
	<a href="#">14.5 免疫マーカーは、硬化性血管腫と腺癌を区別するのに有効か？</a>	免疫染色は、異なる免疫プロファイルを持つ2つの細胞内コンパートメントの識別を補助することで、硬化性血管腫の診断に役立つ場合があります。ケラチンおよびTTF1は、この区別において重要な役割を担っています。
	<a href="#">14.6 免疫マーカーは肺粘膜表皮癌の診断に役立つか？</a>	限られた用途ではありますが、p63、p40、CK5/6のIHCは、類表皮細胞成分を強調する場合があります
	<a href="#">14.7 免疫染色は、肺腺様嚢胞癌の診断および、非小細胞癌と小細胞癌の鑑別に有効か？</a>	粘表皮癌と同様に、腺様嚢胞癌の診断は通常、H&E染色に基づいて行われます。ただし、CD117が腺管/管腔細胞を強調し、p63およびS100が筋上皮/末梢細胞を染色する場合、IHCは、特に形態学的に困難なサンプルにおいて、双対抗体集団の特定に役立つ可能性があります。
	<a href="#">14.8 免疫染色は、肺の上皮筋上皮癌の診断に有効か？</a>	他の唾液型腫瘍と同様に、IHCの役割は、H&E染色切片の適切な形態学的状況の中で病変を定義するさまざまな細胞集団の特定を助けることのみとなります。
<b>第15章</b>		
胸部肉腫に対する免疫マーカー	<a href="#">15.1 いわゆるSMARCA4/SMARCA4欠損胸部悪性腫瘍の診断に有効な免疫マーカーとは？</a>	胸部SMARCA4欠損未分化悪性腫瘍では、SMARCA4(BRG1)に対する免疫染色がないか、もしくは著しく減少しています。
	<a href="#">15.2 胸腔腫瘍の評価では、どのようなときにSMARCA4の染色を考慮すべきか？</a>	SMARCA4に対する染色は、形態学的に未分化の、比較的变化の少ない、非付着性の、またはラプドイドパターンの腫瘍で行うべきであり、形態学的に未分化の癌腫では行うのは一般的ではありません。
	<a href="#">15.3 血管内皮の分化を証明するのに有効な免疫マーカーとは？</a>	ERGとCD31は効果的な内皮マーカーです。CD34やFLI1などの他のマーカーも効果的である可能性はありますが、信頼性は低くなります。
	<a href="#">15.4 悪性血管内皮腫瘍におけるサブタイピングに有効な免疫マーカーとは？</a>	カルモジュリン結合転写活性化因子1(CAMTA1)と転写因子E3(TFE3)のIHCは転位の代用物であり、血管腫瘍の細分類において有効である場合があります。
	<a href="#">15.5 滑膜肉腫とその模倣物を区別するのに有効な免疫マーカーとは？</a>	サイトケラチンとトランスデューション様エンハンサータンパク質1(TLE1)のIHCは、お互い関連して陰性の場合、滑膜肉腫の診断に役立つ可能性があります。しかし、難しい症例に関しては、蛍光in situハイブリダイゼーション(FISH: fluorescence in situ hybridization)や分子検査で確認することができます。
	<a href="#">15.6 孤立性線維性腫瘍(SFT)の評価に有効な免疫マーカーとは？</a>	モノクローナル抗体を使用するシグナル伝達兼転写活性化因子6(STAT6)は、SFTに対して感度が高く比較的特異的なマーカーです。
	<a href="#">15.7 免疫マーカーは炎症性筋繊維芽細胞性腫瘍(IMT)の診断に有効か？</a>	正しい形態学的環境では、ALKまたはROS1のIHCはIMTの診断に役立ちます。
	<a href="#">15.8 多形性紡錘細胞肉腫の評価に役立つ免疫マーカーとは？</a>	MDM2、筋肉マーカー、H3K27me3などのさまざまなマーカーが紡錘細胞肉腫の分類に役立ちますが、それらすべてが複数の腫瘍タイプで反応を示す場合があります。
	<a href="#">15.9 円形細胞肉腫の評価に役立つ免疫マーカーとは？</a>	円形細胞肉腫のマーカーは診断に役立つ可能性があります。小細胞癌といったより一般的な疾患との重複が見られることがあります。疫学的考察(年齢)や腫瘍の位置が参考になる場合があるほか、必要に応じてFISHや分子検査を行うこともあります。
	<a href="#">15.10 血管周囲類上皮細胞腫瘍(PEComas)とその模倣体を区別するのに役立つ免疫マーカーとは？</a>	PEComasは通常、サイトケラチンに対して陰性であり、HMB45、メラニンA、チロシナーゼAに対して陽性です。
<b>第16章</b>		
転移性腫瘍との鑑別のための免疫マーカー	<a href="#">16.1 IHCは転移性扁平上皮癌と原発性肺扁平上皮癌の鑑別に役立つか？</a>	肺の原発性扁平上皮癌と転移性扁平上皮癌の鑑別を確実に補助できるIHCマーカーはありません。臨床病理学的な相関関係が必要となります。

タイトル	主な質問	回答要旨
	<a href="#">16.2 消化管由来の転移性腫瘍と原発性肺腫瘍とを区別するのに役立つIHCマーカーとは？</a>	サイトケラチン (CK7/CK20)、肺 (TTF1/ナプシンA)、消化管 (CDX2) マーカーに対するIHCの組み合わせは、消化管由来の転移を確認するのに有効です。TTF1/ナプシンA陰性の腫瘍では、CDX2に対して陽性であることは消化管からの転移を示唆しています。TTF1/ナプシンA/CDX2陰性の腫瘍では、CK7/CK20プロファイルが役立つ場合がありますが、通常、発生源を確認するには臨床のおよび放射線学的な相関関係が必要となります。
	<a href="#">16.3 乳房由来の転移性癌と原発性肺癌を区別するのに有効なIHCマーカーとは？</a>	乳癌の病歴のある患者においては、可能な場合、原発性乳房腫瘍の組織学的特徴と比較することが推奨されます。TTF1やナプシンA、エストロゲン受容体/プロゲステロン受容体 (ER/PR)、GATA3といった肺と乳房のマーカーを併用することで、ほとんどの症例において、明確な答えを得ることができます。臨床的に関連がある場合、GATA3とマンマグロビンを併用して、膀胱癌などの乳房外悪性腫瘍を除外する必要があります。トリプルネガティブ乳癌 (TNBC) では、転移性乳癌と原発性肺癌を区別するために、肺マーカーをGATA3およびSOX10の両方と併用することが推奨されます。
	<a href="#">16.4 女性生殖管由来の転移性癌と原発性肺癌を区別するのに有効なIHCマーカーとは？</a>	肺腫瘍の鑑別診断に転移性の女性生殖管癌が含まれる場合、原発性肺腺癌と同様に、これらの腫瘍もTTF1を発現する可能性があるため、TTF1は注意して使用する必要があります。PAX8染色は、女性生殖管由来の転移性腫瘍を特定するのに有効です。
	<a href="#">16.5 尿路上皮由来の転移性癌と原発性肺癌を区別するのに有効なIHCマーカーとは？</a>	転移性尿路上皮癌と肺扁平上皮癌の区別には、CK7、CK20、GATA3の組み合わせが最も有効です。
	<a href="#">16.6 腎臓由来の転移性癌と原発性肺癌を区別するのに有効なIHCマーカーとは？</a>	PAX8およびTTF1は、転移性腎細胞癌 (PAX8+/TTF1-) と原発性肺腺癌 (PAX8-/TTF1±) を区別するのに有効です。ナプシンAは、腎細胞癌のさまざまな部分で発現するため、このような状況では有効ではありません。
	<a href="#">16.7 前立腺由来の転移性癌と原発性肺癌を区別するのに有効なIHCマーカーとは？</a>	CK7、CK20、TTF1陰性と、NK3ホモボックス1 (NKX3.1) などの前立腺マーカーの陽性染色と組み合わせることで、転移性前立腺癌を特定することができます。
	<a href="#">16.8 肝臓由来の転移性癌と原発性肺癌を区別するのに有効なIHCマーカーとは？</a>	アルギナーゼ1や肝細胞パラフィン1 (HepPar1) などの肝細胞マーカーとCK7陰性および肺マーカーを組み合わせることで、転移性肝細胞癌 (HCC) を特定することができます。
	<a href="#">16.9 甲状腺由来の転移性癌と原発性肺癌を区別するのに有効なIHCマーカーとは？</a>	ナプシンAが存在しない状況下で、PAX8とTTF1陽性を使用することは、転移性甲状腺癌の特定に役立ちます。
<b>第17章</b>		
中皮腫および免疫組織化学	<a href="#">17.1 類上皮悪性胸膜中皮腫 (MPM) と癌腫を区別するための最良のマーカーとは？</a>	カルレチニンとウィルムス腫瘍タンパク質 (WT1) は、類上皮MPMの診断に最適な陽性中皮マーカーです。クローディン4、MOC31、モノクローナルCEA、B72.3、Ber-EP4を部位特異的マーカーと組み合わせると、癌腫と類上皮MPMとを区別するのに最適となります。
	<a href="#">17.2 肉腫様MPMと肉腫様癌を区別するための最良のマーカーとは？</a>	肉腫様MPMは、サイトケラチンや中皮マーカー (D2-40やカルレチニンが多い) が陽性で診断できますが、癌腫マーカーは陰性です。サイトケラチンが陰性の場合、鑑別診断には肉腫を含める必要があります。特定の遺伝子融合/再配列の精密検査の実施を検討する必要があります。
	<a href="#">17.3 MPMの診断におけるサイトケラチンの役割とは？</a>	サイトケラチン染色は、全層胸膜細胞性、帯状分布の欠如、および胸壁脂肪組織への中皮細胞の浸潤の存在を強調するのに役立ちます。
	<a href="#">17.4 どのような免疫組織化学的マーカーを用いれば、中皮細胞増殖の良性と悪性を区別することができるか？</a>	BRCA1関連タンパク質1 (BAP1) IHCおよびメチルチオアデノシンホスホリラーゼ (MTAP) (CDKN2Aホモ接合性欠失の代用として) は、外科的および体液検体における良性と悪性の中皮増殖を区別するのに役立ちます。
<b>第18章</b>		
胸腺腫瘍と免疫組織化学	<a href="#">18.1 胸腺腫の診断に使用する最適なマーカーとは？</a>	ケラチンと末端デオキシヌクレオチド転移酵素 (TdT) の組み合わせは、胸腺腫の診断に最適なパネルです。CD1aまたはCD99は、胸腺の未成熟リンパ球をマーキングするためにも使用できます。
	<a href="#">18.2 胸腺上皮細胞を強調するために、他にどのようなマーカーを使用できるか？</a>	ポリクローナルPAX8とp40/p63をケラチンおよびTdTのパネルに加えることで、胸腺腫の特徴を明らかにすることができます。



タイトル	主な質問	回答要旨
	<a href="#">18.3 IHCは胸腺腫の分類にどのように役立つか？</a>	ケラチン染色は上皮細胞のパターンを明らかにすることができるため、B1胸腺腫とB2胸腺腫の分類に役立ちます。
	<a href="#">18.4 どのようにすれば胸腺腫と胸腺癌を区別できるか？</a>	世界保健機関 (WHO) のB3型胸腺腫と胸腺癌の鑑別診断は、小生検標本では困難な場合があります。TdT陽性リンパ球の存在は、胸腺腫の診断に有利となります。CD5やCD117の陽性発現は、胸腺癌の診断、および肺扁平上皮癌との鑑別診断に役立ちます。
	<a href="#">18.5 どの染色が胚細胞腫瘍の診断に役立つか？</a>	SALL4は、これらの腫瘍を調べるためにパネルに含める必要がある汎胚細胞腫瘍マーカーです。SALL4が陽性であれば、胚細胞腫瘍であることを意味するため、OCT3/4、KIT (CD117)、CD30、グリビカン3を精上皮腫と非精上皮腫性胚細胞腫瘍の分類子として用いることができます。その他のマーカーは、組織学的検査の後に使用し、適宜追加する必要があります。
<b>第19章</b>		
予測バイオマーカー検査における免疫組織化学の使用	<a href="#">19.1 IHCは上皮成長因子受容体 (EGFR) 変異の検出に役立つか？</a>	EGFR WT IHCには、現時点で広く推奨されている臨床的使用法はありません。特定の状況下では、限定的範囲の変異型EGFRタンパク質を検出するIHCが使用されることがあります。
	<a href="#">19.2 ALK遺伝子再構成を有する腫瘍の検出でIHCが果たす役割とは？</a>	ALK IHCは、進行期の非小細胞肺癌 (NSCLC) 患者に対するALK予測バイオマーカー検査で重要な役割を果たします。
	<a href="#">19.3 ROS1遺伝子再構成を有する腫瘍の検出でIHCが果たす役割とは？</a>	ROS1 IHCは、代替の分子検査でROS1遺伝子再構成を確認する際に、進行期のNSCLCを有する患者集団を絞り込むための手法として確立されています。
	<a href="#">19.4 IHCは神経栄養因子受容体チロシンキナーゼ (NTRK1-3) 遺伝子再構成を有する腫瘍の同定に役立つか？</a>	NTRK1-3遺伝子再構成の検出を補助するIHC検査は、新しい技術であり、その有効性は立証されていません。
	<a href="#">19.5 その他の標的遺伝子変異の予測バイオマーカー検査でIHCは役に立つか？</a>	ここで取り上げた、標的となり得るその他の変異を有する患者の特定において、IHC検査の有効性は立証されていません。
	<a href="#">19.6 免疫療法の適応となるNSCC患者の選択でPD-L1 IHCが果たす役割とは？</a>	NSCCの免疫療法に使用できる新しいバイオマーカーの登場が強く待たれるところですが、PD-L1 IHCは今後も、抗プログラム細胞死タンパク質-1 (PD1) およびPD-L1免疫療法との関連で必要とされる、NSCC臨床サンプルの評価の一環として使用されるでしょう。ただし、さまざまなアッセイ、サンプルタイプ、腫瘍細胞および免疫細胞での発現、臨床的意思決定でのIHCデータの利用方法などに関する疑問は解消されていません。
	<a href="#">19.7 免疫療法の患者を選択する腫瘍微小環境評価にIHCを使用できるか？</a>	今後の腫瘍微小環境因子の評価および利用方法は、まだ確定していません。これらについては、堅実なエビデンスと臨床試験に基づいて決定する必要があります。



# はじめに

# 1

執筆者: Yasushi Yatabe, Keith M. Kerr, Alain C. Borczuk, Wendy A. Cooper  
Sanja Dacic, Andre L. Moreira, Ming Sound Tsao

免疫組織化学 (IHC: Immunohistochemistry) は、病理学的診断の基礎であり、疾患の同定や分類をサポートするために最も広く使用されています。過去30年間、病理医はこの強力な技術を活用して、病理学的治療の領域における診断方法の中でも、とりわけ腫瘍病理において変革してきました。組織化学的手法と電子顕微鏡法は現在も使用されていますが、IHCは問題解決の主力的な手法となっています。

現在、免疫組織化学マーカーは、肺癌や他の胸部悪性腫瘍においてより正確な診断を提供する重要な役割を担っています。問題の多くは、癌診断の領域で共通していることが数多くあります。たとえば、ケラチンや他の上皮マーカーでの癌の同定や診断、リンパマーカーでのリンパ増殖性疾患の同定や分類、臓器特異的マーカーでの肺転移腫瘍の診断などが挙げられます。こうした中、形態が不十分な場合でも適切な診断を確実に行ううえで、免疫表現型が重要になります。神経内分泌腫瘍マーカーは、肺で発生する神経内分泌腫瘍の領域での診断において重要です。たとえば、小細胞肺癌 (SCLC: small cell lung carcinoma) の症例を区分する場合、非小細胞ファミリーの腫瘍 (以下の説明を参照) とは対象的で、治療も大きく異なります。また、神経内分泌腫瘍マーカーは、大細胞神経内分泌癌の診断でも必要になります。これにより、しかるべき形態の腫瘍で神経内分泌分化を確認することができるようになるからです。IHCは悪性中皮腫の診断に欠かせない存在です。サンプルがごく少量でも正確な診断が可能で、診断に特定の法医学上の影響がある領域において、より優れた診断セキュリティを提供します。胸腺腫の形態的分類の見解は、一部のサイトケラチンの発現と、胸腺T細胞に関連する抗原の発現による裏付けにより強化されます。また、この状況でも、IHCにより少量の診断サンプルで安全な診断が可能になります。

しかしながら、肺癌における個人医療の進化と、患者の腫瘍に見られる特定の病理学的特徴に基づいて行われるさまざまな抗癌療法の台頭により、IHCは診断の補佐としての従来的な見方にとどまらず、非常に特殊でさらに多くの役割を担うようになりました。

先述のとおり、IHCはSCLCの分離に有用です。進行性SCLCの治療では、進行性非小細胞肺癌(NSCLC: non-small cell lung carcinoma)で実施される代替レジメンとは対照的に、プラチナ/エトポシド剤の併用が実施されます。進行性非扁平上皮NSCLC患者に対するプラチナ/ペメトレキセド併用療法が承認されたことにより、IHCは進行期のNSCLC患者に対する治療選択を確定するうえで重要な役割を担うようになりました。進行期疾患のほとんどの患者に有効な小生検や細胞診サンプルにおいて、NSCLCの症例の25~40%が、形態的根拠だけではNSCLC-特定不能(NOS: not otherwise specified)の標識以外に正確な細分類ができません。NSCLCの細分類に依存する化学療法レジメンが導入される前までは、治療に支障をきたすこともなく、NSCLC-NOSの診断は臨床的に許容されていました。治療選択が特定の診断に基づくようになったとき、IHCはNSCLC-NOS診断を改善する重要なツールとなり、甲状腺転写因子 1 (TTF1)の適切な使用で組織学的な腺癌を予測し、p63や p40で組織学的な扁平上皮癌を予測することで、こうした診断率が10%未満まで低減されました。現在、この原理は肺腫瘍の世界保健機関(WHO: World Health Organization)分類に組み込まれています。

2015年に公表されたWHO分類においても、IHCはより重要な役割を担いました。p40や TTF1のマーカー発現が示すステータスは、手術で摘出された腫瘍の状況において、扁平上皮細胞と腺癌のそれぞれで定義されている標準的な形態的特徴に匹敵するようになりました。こうしてIHCは、p40や TTF1 IHC染色陽性のみをベースに、かつて巨細胞癌と呼ばれていた扁平上皮細胞や腺癌の症例の3分の2の再診断を担いました。

最後に、このアトラスの焦点ではありませんが、IHCは治療予測バイオマーカーの同定において重要な役割を果たします。これにより、腫瘍の増殖に影響を及ぼす中毒性の発癌因子や他の分子因子をターゲットにした標的治療の範囲をさらに拡大しながら治療対象の患者を選ぶことができるようになります。腺癌で生じるこのような標的治療の傾向を考慮すると、NSCLCでの最初のサブタイプ診断も、分子検査対象の症例に対する正確なトリアージを確実に行ううえで重要になります。肺癌における免疫療法の進化により、IHCが担う役割の重要性は、患者への適切な治療法を確定するうえでさらに高まっています。

胸部悪性腫瘍の患者に対して最善かつ最も正確な診断を行うためには、病理医がIHCの仕組み、実施方法、実施時期、分析結果の適切な解釈の仕方を理解する必要があります。このアトラスでは、国際肺癌研究連合の病理学委員会のメンバーが、公式誌「*Journal of Thoracic Oncology*」に掲載されているレビュー記事からさらに、胸部腫瘍診断に関するIHCのさまざまな側面を簡潔かつ包括的にレビューしています(2019年 Yatabe氏他)。読者にとってこのアトラスが現場を支援する有益なツールになることを強く願っています。

## 参考文献

Yatabe Y, Dacic S, Borczuk AC, et al. Best practice recommendations for diagnostic immunohistochemistry in lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2019;14(3):377-407.

# 免疫組織化学による胸部腫瘍の正確な診断の臨床的関連

# 2

執筆者：Harvey I. Pass、Balazs Halmos

## 肺結節および肺癌病期分類の精密検査における免疫組織化学の重要性

### 不確定肺結節の肺癌診断

影響を及ぼす可能性がある小結節として外科医が判断する悪性腫瘍において、すべての患者に組織学的検証が必要なわけではありません。特に、悪性腫瘍が他の特徴によるものである場合、すなわち陽電子放出断層撮影/コンピューター断層撮影 (PET/CT: positron emission tomography/computed tomography) での標準化吸収値 (SUVmax: standardized uptake value) が高い場合、進行または成長している固形化成分を有する高リスク患者の部分硬質な小結節であるため、手術前の生検はほとんど使用されません。しかし、組織構造の確実な確認が有用な場合もあります。特に、良性の隆起を除外する場合や、以前の胸腔外悪性腫瘍があり、摘出前の転移について書類による証明が提言されている患者の場合が挙げられます。このような場合、適切な特殊療法を確定するためには、穿刺吸引やコア検体、さらに特定の肺癌免疫組織化学 (IHC: immunohistochemistry) パネルによる補足が非常に有益です。また、IHCの補足は、腫瘍が肺癌になりすました良性結節であるかどうかや、小細胞肺癌を神経内分泌領域の他の独立体と区別する場合など、生検の特殊な状況にも対処されているかどうかを判断するうえでも重要になります。たとえば、菌性またはマイコバクテリア由来のキャビテーション病変がキャビテーションによる癌と区別されるのは、組織構造やIHCなどの特殊な染色によって実施する治療法が大幅に変わるからです。

### 肺癌診断

ある症例では、IHCは肺癌の診断や確定分類に不可欠です。外科医の基本方針は、適切な診断を行い、完全摘出を実施して患者に安心してもらうことです。外科医が悪性腫瘍の明確な術前診断を実施し、異常病理に関連する悪性腫瘍のタイプや関連の病期分類の詳細が適切に診断されれば、誤った特殊治療は確実に回避できます。外科医



は、肺癌、肺癌になりすました良性結節、縦隔腫瘍、胸膜腫瘍など、さまざまな胸部の疾患に対応するため経皮核や穿刺吸引に直面します。生検の特異性における外科医の判断材料には、病理医が使用している検体のサイズやヘマトキシリン-エオシン染色のパターン認識だけでなく、良性疾患と、悪性疾患や悪性腫瘍のタイプを区別する特定のIHCパネルも挙げられます。

### リンパ節の状態とIHC

肺癌と推定または診断された患者においてサイズやPET重量から腺症が疑われる場合、免疫組織化学的検査の適用の可能性は大きくなります。サイトケラチンカクテルや他の肺癌のIHCマーカーで検出された微小転移の同定は、外科医にとって、患者に対し最初に導入療法を行うか、あるいは手術を行うかを判断するアラートになります。さらに、慢性リンパ球性白血病/小リンパ球性リンパ腫や他の無痛性リンパ腫の病歴がある患者において、疑わしい腺腫がリンパ腫に関連し、肺癌に関連していないことが確認された場合は、フローサイトメトリーやリンパ腫IHCのパネルが必要になります。

### 判断を誤るなりすましの同定

発表された胸部腫瘍学の文献には、「ニアミス」の手術例や、摘出後に「予想外」と判定された手術例が多くあります。IHCによりクレブシエラ菌（2014年McCartney氏他）、放線菌症（2019年Papakonstantinou氏他）、サイトメガロウイルス（CMV: cytomegalovirus）（2005年Allen氏他）などの感染症が腫瘍と区別されるという報告が数多くありました。剥離性間質性肺炎は、気腔に多数の細胞を有する反結合領域がある肺腺癌と混同されてしまっています（2014年Raparia氏他、1998年Mutton氏他）。サイトケラチン染色によるIHCは、このような症例で診断を鑑別するうえできわめて重要になっています。

### 中皮腫

胸膜疾患の疑いがある患者の鑑別診断では、手術が適切かどうかを判断するために、多抗体のパネルが必要になります。腺癌および扁平上皮マーカーの染色欠如と相まって、BRCA1に関連するタンパク質1（BAP1: BRCA1-associated protein 1）の染色損失の作用や、他の抗体中のカルレチニンやウィルムス腫瘍タンパク質（WT1: Wilms tumor protein）の染色の発現は、中皮腫の特殊治療を専門とする胸部外科医にとって有用です（第17章を参照）。悪性腫瘍の病歴がある胸水患者は、中皮腫と混同されることがありますが、胸膜疾患に匹敵する原発性腫瘍のIHCにより、腫瘍縮小手術を除外することができます。中皮腫の手術実施においては議論がありますが、IHCで適切な診断を行うことが最も重要です。中皮腫を他の胸部悪性腫瘍と区別することにより、この疾患特有の適切な治療を行う道筋が見えるようになり、さらに患者が自身の病因を理解できるようにもなるので、法的にも経済的にも影響がもたらされる可能性があります。肉腫の組織構造をより積極的に認識することで、臨床チームは、広範囲の手術などでサブセットにおける利点が限られてしまったり、患者をもっぱら過度な治療状態に晒したりするような治療介入を回避することができるようになります。

## 神経内分泌癌

臨床的判断を促す非常に重要な病理的特徴は、神経内分泌癌の細分類にあります(第10章を参照)。神経内分泌(NE: neuroendocrine)分化と Ki-67染色を評価するのに適切なIHC検査は、適切な分類の裏付けとなり、これにより最適な治療調整が実現します。典型的(低悪性度のNE腫瘍)なカルチノイドや非定型性(中悪性度)のカルチノイドは、低悪性度の胃腸(GI: gastrointestinal) NE腫瘍向けに確立されたガイドラインに沿って治療が行われるのが一般的です。ここで使用されるものとしては、ソマトスタチン類似体、mTOR阻害薬(エベロリムス)(2011年Yao氏他)、薬剤(スニチニブ)を対象にした血管内皮細胞増殖因子(VEGF: vascular endothelial growth factor)(2011年Raymond氏他)、さらに最近では、ペプチド受容体放射性核種治療(2017年Strosberg氏他)が挙げられます。従来、巨細胞NE癌や小細胞癌など、進行のはやい高悪性度のNE腫瘍で治療の中心となっていたのは近年の統合による併用化学療法で、チェックポイント阻害治療が盛んに行われていました。こうした併用の結果、進行期の小細胞肺癌の特殊治療に向けた カルボプラチン/エトポシド化学療法とペムブロリズマブを併用するアテゾリズマブが承認されました(2018年Horn氏他、2020年Chung氏他)。

## その他の胸部悪性腫瘍

浸潤型胸腺腫、胸腺癌、カルチノイドなどの胸腺悪性腫瘍の適切な細分類により、最適な治療選択、予後、さらなる実証研究に携わることができるようになります。最近の世界保健機関(WHO: World Health Organization)分類により、適切な細分類指定におけるIHC研究の重要な役割が認められています(2014年Marx氏他、第18章を参照)。腫瘍随伴症候群においては、胸腺悪性腫瘍の特殊治療特有の面があります。最近の研究では、このクラスの腫瘍において、チェックポイント阻害治療による重度の免疫有害事象が高頻度で発生していることが示唆されています(2019年Lippner氏他)。標的分子の変質の可能性を考慮のうえ、治療の可能性がある他の新たなサブセットとしては、精巣(NUT: nuclear protein in testis)癌の核タンパク質(2016年StaThis氏他、第14章を参照)や SMARTCA4欠損の胸部悪性腫瘍(2015年Le Loarer氏他、第15章を参照)が挙げられます。非小細胞肺癌に分類分けされていますが、潜在的な MET エクソン14の変質による癌の攻撃的な性質や高い発生頻度(2016年Liu氏他)と、MET標的および免疫療法の間方に対する治療反応性(2017年Schrock氏他)を考慮すると、肺癌腫瘍の認識は重要です。

## 転移性疾患

肺炎変や門/縦隔/鎖骨上の 腺症の鑑別診断における重要な違いは、他の臓器からの転移性疾患にあります(第16章を参照)。症例に関する主な病歴、臨床、X線撮影の要素を病理医に伝達し、検査範囲の判断を確実に行うには、臨床医と病理医間の丁寧なコミュニケーションがきわめて重要です。転移性悪性腫瘍の適切な診断は非常に重要ですが、バイオマーカー研究が治療の指針を示せるよう生検を実施する際、既知の肺悪性腫瘍の場合においては、不必要に一連のIHC研究が行われることになり、組織を無駄に使用することになるため、重大なマイナス結果となります。最近の研究では、IHC研究以外にも拡張分子検査が原発部位/腫瘍の同時発生の認識に役立つ可能性があることが示唆されています(2019年Chang氏他)。

## 治療選択にIHCを実施する場合の特別な配慮

### アジュバント治療選択の予後マーカー

組織構造に関する現行のWHO分類では、腺癌の細分類が定義されていますが、これは再発率や死亡率の増加に関連しています(2012年Warth氏他、2015年Tsao氏他)。微小乳頭癌や固形疾患のある患者が皆早期再発するわけではありませんが、より正確な予後予測の手法が他にあるか調査する必要があります。リンパ管浸潤、内臓胸膜浸潤、肺腺癌における空気空間(STAS: spread through alveolar spaces)などの特定の微小形態の問題や悪性度の高い核の特徴は、より攻撃的な悪性表現型と関連付けられています。しかし、これらの特徴から再発を予測できないことから、アジュバント療法の適応が絶対的ではないと考えられている理由の1つにもなっています。また、適合する特徴は一貫して再発率や死亡率に関連しています。しかし、患者への過剰治療が有害な合併症を引き起こす可能性により、こうした特徴間の相関性や、潜在的に有益な治療を新たに行う正当な必要性に対しても影響が及んでいます。単一的または複合的な抗体IHCでの予後予測で再発予測の精度を向上させる願いは、25年以上前に、271早期肺癌患者のerbB-2 (ヒト上皮成長因子受容体2[HER2: human epidermal growth factor receptor 2]/Neu)、p53、Ki-67において、オンコプロテイン染色を実施したのが始まりでした(1995年Harpole氏他)。以来、IHCベースでの予後マーカーについては、実際のところ目立った効果がないとする報告が何百も発表されました(2006年Zhu氏他、2016年Woodard氏他、2019年Seymour氏他)。これは、使用する抗体のソースや品質、染色プロトコル、アルゴリズムと「カットオフ」のスコアリング、データ分析の統計的アプローチなど、IHC手法の標準化が欠如していることが主な原因です。一部の研究では、サンプルサイズが小さいために一貫性のない結果が生じることもあります。こうした場合においては、標本となるものがほとんどありません。機関や出版のバイアスも重要な役割を果たすことがあります(2014年Zhu氏およびTsao氏)。これらの研究のほとんどにおいて検証の枠組みがなく、単独のIHC検査のパネルが個別の事象予測であることを証明する多変量解析を実施できませんでした。

### 予測IHCバイオマーカー

Hung氏とShol氏のレビュー(2018年)では、ターゲットとなる融合や変異のうち、特定のIHC抗体に付随するものを詳細に説明しています。未分化リンパ腫キナーゼ(ALK: Anaplastic lymphoma kinase)の再配列は、95%以上の感度と特異性を持つクローンD5F3 (Roche Tissue Diagnostics)と5A4 (Leica)により検出され、ALKベースの治療患者を選択するスタンドアロン分析に使用されます(2018年Lindeman氏他、2016年Tsao氏他)。C-Ros癌遺伝子1(ROS1: c-ros oncogene 1)の再配列は、ALKと同様に、蛍光in situ ハイブリダイゼーション(FISH: fluorescence in situ hybridization)により診断されるのが最も一般的です。Hung氏とSholl氏(2018年)は、クローンD4D6 (Cell Signaling Technology, Inc.)の感度が95%であるにもかかわらず、研究によって特異性が異なることを強調しています。したがって、ROS1 IHCは他のプラットフォームで陽性結果を確認する必要があります(2018年Lindeman氏他)。ただし、ROS1 IHCの結果が陰性の場合、ROS1 転座を除外するうえで信頼性があると考えられています。上皮成長因子受容体(EGFR: Epidermal growth factor receptor)の変異体(L858Rおよびエクソ



ン19 E746-A750欠失の特異的抗体)は臨床成績が異なり、総合的に感度が59%、特異度が98%であることが一般的に認められています(2016年Ragazzi氏他)。偽陽性のIHC結果も記録されてしまっている(2010年Kitamura氏他)ので、陰性EGFR変異が特異的なIHC結果の腫瘍は、分子法を用いてEGFR変異について再検査する必要があります。したがって、EGFR変異特異的抗体は、治療のためのスタンドアロン検査に使用しないでください(2018年Lindeman氏他)。詳細については、第19章で説明します。

## 扁平上皮型肺癌

非小細胞肺癌のほとんどを占めるのが扁平上皮癌です。喫煙歴と大きく関連し、チェックポイント阻害治療による中腫瘍/高腫瘍突然変異負荷や大きな利点が一般的に認められています。病理学的な違いは、いくつかの考慮事項において非常に重要である。まず、抗VEGFモノクローナル抗体であるベバシズマブの初回の研究により、進行性非小細胞肺癌患者においてかなりの毒性がハイライトされました。この毒性は、危険性の高い喀血で潜在的に致死性があり、扁平上皮細胞腫瘍がある患者によく見られます(2004年Johnson氏他、表2-1)。この危険性の高さが生物学的または解剖学的特徴に関連しているかどうか(通常、キャビテーションを伴う中央の大きな腫瘍が最も危険性が高く、扁平上皮組織構造でよく見られます)は不明です。しかし、ベバシズマブの承認は非扁平上皮腫瘍に限定され、実際問題として毒性の懸念もあるため、ベバシズマブの使用を検討する場合は、組織学的な確認が重要になります。次に、扁平上皮肺癌における分子遺伝の性質は腺癌とはかなり異なるため、腺癌に共通してよく見られる有効な所見を同定する可能性は一般的にきわめて低いです。したがって、扁平上皮癌において分子検査を前もって実施することは一般的に推奨されません。ここでの重要な注意点は、扁平上皮肺癌の稀有な非喫煙者サブセットでは、収率と影響性が高いため

表2-1 遺伝子変化による治療の可能性

診断(検査)	治療が必要な可能性あり	治療除外の可能性あり
扁平上皮NSCLC	ネシツムマブ(抗EGFR mAb)	ベバシズマブ(抗VEGF mAb)
非扁平上皮NSCLC	ペメトレキセド、ベバシズマブ	
EGFR 変異	EGFR TKI	免疫療法
ALK 転座	ALK TKI	免疫療法
ROS1 転座	ROS1 TKI	
BRAF V600E	BRAF/MEK併用療法	
NTRK1/2/3転座	TRK阻害剤治療	
MET エクソン14スキッピング変異	MET TKI	
RET 転座	RET TKI	
ERBB2/HER2 変異	実験的ErbB2阻害剤	
PD-L1陽性	単剤免疫療法	
NUT癌	実験的BET/HiDAC阻害薬	
SMARCA4欠損胸部肉腫	実験的EZH2阻害剤	

略語: ALK=未分化リンパ腫キナーゼ、BET=プロモドメインおよびエクストラ末端(bromodomain and extraterminal)、BRAF=B-RAFプロトオンコジーン、EGFR=上皮成長因子受容体、EZH2=zesteホモログ2エンハンサー(enhancer of zeste homolog 2)、HER2=ヒト上皮成長因子受容体2、HiDAC=高用量シタラビン(high-dose cytarabine)、MEK=分裂促進因子活性化プロテインキナーゼ(mitogen-activated protein kinase)(MAPK)キナーゼ、MET=METプロトオンコジーン(MET proto-oncogene)、NSCLC=非小細胞肺癌、NTRK=神経栄養因子受容体チロシンキナーゼ、NUT=精巢の核タンパク質、PD-L1=プログラム細胞死リガンド-1、RET=retプロトオンコジーン(ret proto-oncogene)、ROS1=C-Ros癌遺伝子1、TKI=チロシンキナーゼ阻害薬(tyrosine kinase inhibitor)、VEGF=血管内皮細胞増殖因子

腺癌タイプの検査が必要になります(2017年Sholl氏)。さらに、混合組織構造(ごく少量のサンプルから同定された扁平上皮組織構造)において妥当な可能性がある場合、サンプルタイプの異質性が高いため、このサブセットの明確なガイドラインを生み出すのは困難ですが、慎重に行えば分子検査は可能です。扁平上皮癌は、EGFR受容体の発現においてきわめて均等に強力な陽性となります。実際にSQUIRE (Standards for Quality Improvement Reporting Excellence)の研究では、米国食品医薬品局(FDA: Food and Drug Administration)の承認のきっかけとなった進行性扁平上皮非小細胞肺癌(NSCLC: non-small cell lung carcinoma)において、プラチナベースダブルットの化学療法との併用による抗VEGFモノクローナル抗体(ネシツムマブ)の大きな利点を統計的に証明しました。とはいえ、臨床的利点としては限局的でコストがかかるため、この治療法は一般的に実施されていません(2015年Thatcher氏他)。最近のゲノミクスやプロテオミクスの研究では、潜在的な治療意義のある酸化経路の変化で特徴付けるなど、扁平上皮細胞腫瘍の中で分子的に定義された腫瘍の主なサブセットがハイライトされています(2019年Stewart氏他)。

### 非扁平非小細胞肺癌

治療の観点からは、「非扁平上皮」非小細胞肺癌(主に、巨細胞癌の割合が徐々に縮小して大多数の腺癌で構成される)の適切な分類は、多標的抗葉酸剤であるペメトレキセドの導入により重要性が高まりました。扁平上皮癌患者の下位活性における組織構造の違いを証明する複数の研究でのサブセット分析により、ペメトレキセドは、進行性NSCLC患者への二次および一次治療の両方における一連の研究を通して優れた活性度と耐性があることが実証されました(2008年Scagliotti氏他)。逆に、進行性非扁平上皮腫瘍の患者に対し、プラチナ/ペメトレキセドの化学療法ダブルットは、世界的に最も一般的に使用されている最先端の化学療法レジメンで、アジュバント設定でも広く実施されています(2011年Scagliotti氏他)。先述の研究を根拠に、広く使用され支持されているこの化学療法剤は、最終的に非扁平上皮腫瘍のみで承認されています。したがって、臨床医も患者も同様に、この区別は可能な限り病理医が行うことが重要ですが、この構成概念は人為的なものであることも確かなので、議論の余地があります。免疫療法を導入しても、この区分の重要性が変わることはありません。これは、実証性の高いKEYNOTE-189試験に基づく非扁平非小細胞肺癌に対して最も一般的に使用される化学療法/免疫療法の併用がペメトレキセドベースのままだからです(2018年Gandhi氏他)。維持ペメトレキセド療法は、進行性非扁平非小細胞肺癌患者にのみ使用されるのが一般的ですが、これに対して、維持化学療法は扁平上皮細胞腫瘍において推奨されていません(2009年Ciuleanu氏他)。さらに腺癌や巨細胞癌において、影響力のある分子変化の頻度が非常に高いことから、組織学的分類と区別を適切に行う必要性が常に強調されています(2019年Chan氏他)。

### 分子検査と組織管理

EGFR 遺伝子突然変異の活性化により、EGFRチロシンキナーゼ阻害薬に対し高い感度を持つ分子的に定義された腫瘍サブセットが同定されることが判明しました(2004年Lynch氏他)。以来、進化性非小細胞肺癌の最適な初期管理のために、広範な分子

遺伝子型決定を行う必要があるとする認識が急増しています。これには、EGFR/ALK/ROS/B-RAFプロトオンコジーン(BRAF: B-raf proto-oncogene)における最小限の試験が含まれ、そこでのハイレベルなエビデンスは、非常に効果的な分子標的治療の事前実施を目的としています(2018年Lindeman氏他、2018年Halmos氏)。NTRK1/2/3融合陽性癌に対する神経栄養因子受容体チロシンキナーゼ(NTRK: neurotrophic tyrosine receptor kinase)阻害薬の優れた活性度と、その結果のFDA承認に関する最近の興味深いデータにより、こうした稀有ながらも影響力のある変質に対する検査も非常に重要になっています(2018年a、Drilon氏他)。METエクソン14スキッピング変異(2020年Drilon氏他)とRET転座(2018年Subbiah氏他)の影響性に関する新たなデータにより、現在の標的グループが完成します。最後に、HER2の変化(2017年Pillai氏他)、Kirstenラット肉腫ウイルス癌遺伝子ホモログ(KRAS: Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog)、G12C突然変異(2020年Lanman氏他)、ニューレグリン1(NRG1: neuregulin-1)融合(2018年b、Drilon氏他)は、有望なデータを使用した現在進行中の研究の焦点となっています。これらを最小限に抑えて試験を実施することにより、患者が現在進行中の臨床試験に参加できるようになることを提唱します。全体として、適宜取得した信頼度の高い陽性および陰性結果で適切に遺伝子型決定を行い、患者管理をリードしていくためには、画一的な反射検査プロトコルの開発が必要です。これは、単独の遺伝子検査アプローチにおけるマルチプレックス、すなわち理想的には次世代シーケンシング(NGS: next-generation sequencing)検査の潜在的優位性を示唆しています。また、これらの問題では、不必要に組織を消耗させるのではなく、臨床関連の検査結果を最大限に活用するためには、組織管理に特化した調整と細心の注意が求められています。組織の不必要な消耗は、遺伝子型決定が不完全になったり、機会が失われたり、さらに、患者の潜在的なリスクやコストが増大する原因となり、さらなる侵襲的治療法を招くこととなります。しかし、NGS検査の時代であっても、IHCにはかなりの役割があるのが実情です(2019年Tsao氏およびYatabe氏)。

## PD-L1検査

過去数年間、チェックポイント阻害剤により肺癌管理の状況が変化しています。現在、基本的に進行性非小細胞肺癌や進行期小細胞肺癌のすべての患者に対する標準治療では、プログラム細胞死タンパク質-1(PD1: anti-programmed cell death protein-1)またはプログラム細胞死リガンド-1(PD-L1: anti-programmed death ligand-1)療法が化学療法と併用されるか、PD-L1腫瘍比率スコア(TPS: tumor proportion score)が高いスコア陽性非小細胞肺癌の患者の場合には、単剤のペムブロリズマブが使用されます(2020年Alexander氏他)。さらに、抗PD-L1抗体であるデュルバルマブでの免疫療法が承認され、同時化学放射線療法実施後の切除不能なステージ3非小細胞肺癌に対する根治治療にて広く実施されています(2018年Antonia氏他)。現在、数多くの臨床研究が行われ、こうした状況における免疫療法の有用性が拡大し、初期ステージのシナリオにおける免疫療法の役割が評価され治療の効果が一層期待されています。

チェックポイント阻害剤がもたらす利点は明らかですが、利点を高め毒性を抑えるうえで、患者集団を強化する方法は未だあいまいです。さまざまなバイオマーカーが評価されている中、PD-L1 IHCは唯一の検証済みバイオマーカーです。現在承認され



ている使用法は、顕著な進行性NSCLCの状況で単剤のペムブロリズマブの候補を同定することです。PD-L1 IHC TPSスコアが50%以上の場合、ペムブロリズマブがダブルット化学療法よりも優れている患者集団と定義されます。1~49%のスコアの場合、ペムブロリズマブの有効性がダブルット化学療法に似ているが、毒性が低い患者集団と定義されます(2020年Landuejoul氏他)。標準治療はダブルット化学療法ではなくなり、たいていの場合において、KEYNOTE-189/407およびIMpower-150/130の研究結果に基づく患者向けの化学療法/免疫療法となるため、これらの結果には慎重な予測と解釈が求められます(2018年Gandhi氏他、2018年Paz-Ares氏他、2018年Horn氏他)。現在、小細胞肺癌の管理におけるPD-L1検査の役割は定義されていません。また、デュルバルマブは、ステージ3NSCLCでPD-L1 IHC検査結果に関係なく(PD-L1 TPSスコアが0の患者の場合に、たとえサブセット分析にて利点が限られることが示唆されていても)、FDAで承認されます(2020年Grey氏他)。抗PD-L1抗体であるアテゾリズマブの使用を評価するImpowerの一連の研究では、免疫細胞陽性(TC/IC)などの異なるPD-L1 IHCスコアリングシステムに注目しました(2019年Vennapusa氏他)。新たな結果によると、TC/ICスコアが高い患者で単剤免疫療法を実施することにより、同様に有益な効果が得られることが示唆されています。

PD-L1 IHC検査では、抗体の選択、スコアリングシステム、時間的/腫瘍内不均質性に関する多くの問題があります(2017年RIMMet氏他、2020年Lantuejoul氏他)が、先述の考慮事項に基づき、進行性NSCLCおよび扁平上皮や非扁平上皮の肺癌患者には、現在もなお臨床的な関連分析が推奨されています。(1)腫瘍突然変異負荷(TMB: tumor mutational burden)(組織または循環腫瘍DNA [ctDNA: circulating-tumor DNA]ベース)(2019年Vokes氏他)などの腫瘍の遺伝的性質や、マイクロサテライト不安定性(MSI: microsatellite instability)(低頻度のため肺癌への影響が少ない)と単一遺伝子マーカー(免疫療法効果の陰性予測因子としての*STK11/KEAP1* など[2018年Skoulidis氏他])、または(2)免疫に関する選択的遺伝子のRNA発現による免疫署名(2018年Socinski氏他)に基づいて患者の選択を最適化するために、さらなるバイオマーカーの出現が期待されています。ただし、日常的な実施に推奨される検証レベルに達しているものはまだありません。

## 肺癌の進化する治療パラダイムにおけるIHC研究に関する新たな考慮事項

### ネオアジュバント療法後の組織学的評価

高ステージ患者の選択的グループの管理や適期検査の有効性評価におけるネオアジュバント療法の実施が増加する中、導入後の摘出時における治療反応性に関する病理学的解釈へのアプローチを標準化することが重要になります。Hellman氏ら(2014年)とBlumenthal氏ら(2018年)の優れたレビューでは、主要な病理学的反応(MPR: major pathologic response)として、0~10%の残存生存細胞における分類精度が強調されています。これについて、当初Pataer氏ら(2012年)はネオアジュバント試験での残存細胞をサロゲートと説明していました。残存生存細胞における疾患の定量においては、患者が受けた治療の種類、つまり化学療法と免疫療法の比較について、具体的な検討が必要になる場合があります。免疫療法に関連する反応の特徴付けは、免疫関連病理学的応答基準(irPRC:



immune-related pathologic response criteria) の提案のきっかけとなりました (2018年Cottrell氏他)。場合によっては所属リンパ節反応も含めMPR評価の標準化が当然必要となり、MPR評価に関する国際肺癌研究連合 (IASLC: International Association for the Study of Lung Cancer) 勧告も発表されました (2020年Travis氏他)。ただし標準化とはいえ、多重化された免疫蛍光プラットフォーム (2018年Parra氏他) や、残存腫瘍床の解釈に關与する特定領域のデジタル空間プロファイリング (2020年Beechem氏) で微調整することはできます。

### 後天的な耐性と組織学的変化

標的治療により、影響力のある変質を潜伏させている進行性非小細胞肺癌患者の治療は劇的に改善されていますが、後天的耐性はこの状況特有の問題です。後天的耐性は、EGFR突然変異肺癌の状況において最もよく知られていますが、効果的な分子標的治療が可能な他のあらゆる疾患サブセットにも同じパラダイムが適用されると考えられています (2017年Attarian氏他、2019年Lim氏およびMa氏)。一般的に、後天性耐性は腫瘍の二次遺伝的または後成的変化によって引き起こされますが、この腫瘍は予想される通り、以下の3つにおいて影響を及ぼします：

1. 経路の変化は、一般的には標的遺伝子の二次変異で、標的タンパク質の薬物結合特性に影響を及ぼすことがよくあります。最もよく知られている症例は、第1または第2世代EGFRチロシンキナーゼ阻害薬において一般的なゲートキーパーであるEGFR T790M突然変異の発生です (2005年Kobayashi氏他)。このような二次変異は次世代の薬剤に敏感なため、治療調整を左右する可能性があります。
2. MET増幅などのバイパス経路の変質は、両方の経路を遮断する併用標的療法の実施による潜在的に影響力のある変質です。(2009年Nguyen氏他)。
3. 組織学的変化は、TP53、網膜芽腫 (RB: retinoblastoma)、ホスファチジルイノシトール-4,5-ビスリン酸 3キナーゼ触媒サブユニット  $\alpha$  (PIK3CA: phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit  $\alpha$ ) の共変化を伴う腫瘍の場合、小細胞形質転換として最も一般的に見られます。このような小細胞様腫瘍は、小細胞をターゲットにした治療レジメンに反応する可能性があるため、適切な検出が必要です。

最近では、扁平上皮癌や肉腫癌に対する他の組織学的変化も頻度の増加に伴い観察されています (2020年Schoenfeld氏他)。全体的に分子の再サンプリングにより有用性が高まり、理解が深まり、実験計画が最適化され、そして何よりも日常的な患者ケアが改善されました。現在、分子検査はctDNA検査を通じて最初に行われていますが、ctDNA検査が有益でない場合や組織学的変化の疑いがある場合は、組織検査が求められるのが一般的です。こうした状況では、腫瘍医と病理医の間の丁寧なコミュニケーションが最も重要です。これにより、従来のIHC検査で使用可能な組織を適切に優先順位付けして、悪性腫瘍や組織学的変化を適切に診断することができるようになります。さらに、通常のNGSベースの検査プラットフォーム用に組織が保存され、潜在的な後天的耐性の変化の成長スペクトルが慎重に定義されます。

### 結論

診断検査中の慎重な組織管理を実践するために、組織の節約の必要性はますます高まっています。さらに、可能な限り問題なく使用できる組織を獲得するにつれ、組織コ

アの中には、一連の診断全体で適用できるベストプラクティスを求める調査研究に理想的なものもあっていわれています。IHC研究の慎重な活用は、診断収率を最大化し、反復手順の必要性を最小限に抑え、治療開始までの収率と検査所要時間を最適化するうえで重要な要素です。

## 参考文献

- Alexander M, Ko B, Lambert R, et al. The evolving use of pembrolizumab in combination treatment approaches for non-small cell lung cancer. *Expert Rev Respir Med.* 2020;14(2):137-147.
- Allen TC, Bag R, Zander DS, Cagle PT. Cytomegalovirus infection masquerading as carcinoma in a lung transplant patient. *Arch Pathol Lab Med.* 2005;129(1):e1-3.
- Antonia SJ, Villegas A, Daniel D, et al. Overall survival with durvalumab after chemoradiotherapy in stage III NSCLC. *N Engl J Med.* 2018;379(24):2342-2350.
- Attarian S, Rahman N, Halmos B. Emerging uses of biomarkers in lung cancer management: molecular mechanisms of resistance. *Ann Transl Med.* 2017;5(18):377.
- Beechem JM. High-plex spatially resolved RNA and protein detection using digital spatial profiling: a technology designed for immuno-oncology biomarker discovery and translational research. *Methods Mol Biol.* 2020;2055:563-583.
- Blumenthal GM, Bunn PA Jr., Chaft JE, et al. Current status and future perspectives on neoadjuvant therapy in lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2018;13(12):1818-1831.
- Chan AW, Chau SL, Tong JH, et al. The landscape of actionable molecular alterations in immunomarker-defined large-cell carcinoma of the lung. *J Thorac Oncol.* 2019;14(7):1213-1222.
- Chang JC, Alex D, Bott M, et al. Comprehensive next-generation sequencing unambiguously distinguishes separate primary lung carcinomas from intrapulmonary metastases: comparison with standard histopathologic approach. *Clin Cancer Res.* 2019;25(23):7113-7125.
- Chung HC, Piha-Paul SA, Lopez-Martin J, et al. Pembrolizumab after two or more lines of previous therapy in patients with recurrent or metastatic SCLC: results from the KEYNOTE-028 and KEYNOTE-158 studies. *J Thorac Oncol.* 2020;15(4):618-627.
- Ciuleanu T, Brodowicz T, Zielinski C, et al. Maintenance pemetrexed plus best supportive care versus placebo plus best supportive care for non-small-cell lung cancer: a randomised, double-blind, phase 3 study. *Lancet.* 2009;374(9699):1432-1440.
- Cottrell TR, Thompson ED, Forde PM, et al. Pathologic features of response to neoadjuvant anti-PD-1 in resected non-small-cell lung carcinoma: a proposal for quantitative immune-related pathologic response criteria (irPRC). *Ann Oncol.* 2018;29(8):1853-1860.
- Drilon A, Clark JW, Weiss J, et al. Antitumor activity of crizotinib in lung cancers harboring a MET exon 14 alteration. *Nat Med.* 2020;26(1):47-51.
- Drilon A, Laetsch TW, Kummar S, et al. Efficacy of larotrectinib in TRK fusion-positive cancers in adults and children. *N Engl J Med.* 2018;378(8):731-739. (a)
- Drilon A, Somwar R, Mangatt BP, et al. Response to ERBB3-directed targeted therapy in NRG1-rearranged cancers. *Cancer Discov.* 2018;8(6):686-695. (b)
- Gandhi L, Rodríguez-Abreu D, Gadgeel S, et al. Pembrolizumab plus chemotherapy in metastatic non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2018;378(22):2078-2092.
- Gray JE, Villegas A, Daniel D, et al. Three-year overall survival with durvalumab after chemoradiotherapy in stage III NSCLC-update from PACIFIC. *J Thorac Oncol.* 2020;15(2):288-293.
- Halmos B. Molecular testing in lung cancer: where to draw the line?. *Arch Pathol Lab Med.* 2018;142(7):787-789.
- Harpole DH Jr., Herndon JE 2nd, Wolfe WG, et al. A prognostic model of recurrence and death in stage I non-small cell lung cancer utilizing presentation, histopathology, and oncoprotein expression. *Cancer Res.* 1995;55(1):51-56.
- Hellmann MD, Chaft JE, William WN Jr., et al. Pathological response after neoadjuvant chemotherapy in resectable non-small-cell lung cancers: proposal for the use of major pathological response as a surrogate endpoint. *Lancet Oncol.* 2014;15(1):e42-50.
- Horn L, Mansfield AS, Szczesna A, et al. First-line atezolizumab plus chemotherapy in extensive-stage small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2018;379(23):2220-2229.
- Hung YP, Sholl LM. Diagnostic and predictive immunohistochemistry for non-small cell lung carcinomas. *Adv Anat Pathol.* 2018;25(6):374-386.
- Johnson DH, Fehrenbacher L, Novotny WF, et al. Randomized phase II trial comparing bevacizumab plus carboplatin and paclitaxel with carboplatin and paclitaxel alone in previously untreated locally advanced or metastatic non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2004;22(11):2184-2191.

- Kitamura A, Hosoda W, Sasaki E, et al. Immunohistochemical detection of EGFR mutation using mutation-specific antibodies in lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2010;16(13):3349-3355.
- Kobayashi S, Boggon TJ, Dayaram T, et al. EGFR mutation and resistance of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med.* 2005;352(8):786-792.
- Lanman BA, Allen JR, Allen JG, et al. Discovery of a covalent inhibitor of KRASG12C (AMG 510) for the treatment of solid tumors. *J Med Chem.* 2020;63(1):52-65.
- Lantuejoul S, Sound-Tsao M, Cooper WA, et al. PD-L1 Testing for lung cancer in 2019: perspective from the IASLC Pathology Committee. *J Thorac Oncol.* 2020;15(4):499-519.
- Le Loarer F, Watson S, Pierron G, et al. SMARCA4 inactivation defines a group of undifferentiated thoracic malignancies transcriptionally related to BAF-deficient sarcomas. *Nat Genet.* 2015;47(10):1200-1205.
- Lim ZF, Ma PC. Emerging insights of tumor heterogeneity and drug resistance mechanisms in lung cancer targeted therapy. *J Hematol Oncol.* 2019;12(1):134.
- Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, et al. Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *J Thorac Oncol.* 2018;13(3):323-358.
- Lippner EA, Lewis DB, Robinson WH, et al. Paraneoplastic and therapy-related immune complications in thymic malignancies. *Curr Treat Options Oncol.* 2019;20(7):62.
- Liu X, Jia Y, Stoopler MB, et al. Next-generation sequencing of pulmonary sarcomatoid carcinoma reveals high frequency of actionable MET gene mutations. *J Clin Oncol.* 2016;34(8):794-802.
- Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med.* 2004;350(21):2129-2139.
- Marx A, Ströbel P, Badve SS, et al. ITMIG consensus statement on the use of the WHO histological classification of thymoma and thymic carcinoma: refined definitions, histological criteria, and reporting. *J Thorac Oncol.* 2014;9(5):596-611.
- McCartney C, Moghadam A, Sriram KB. Lung adenocarcinoma masquerading as refractory *Klebsiella pneumoniae*. *BMJ Case Rep.* 2014;2014.
- Mutton AE, Hasleton PS, Curry A, et al. Differentiation of desquamative interstitial pneumonia (DIP) from pulmonary adenocarcinoma by immunocytochemistry. *Histopathology.* 1998;33(2):129-135.
- Nguyen KS, Kobayashi S, Costa DB. Acquired resistance to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small-cell lung cancers dependent on the epidermal growth factor receptor pathway. *Clin Lung Cancer.* 2009;10(4):281-289.
- Papakonstantinou NA, Vlachou G, Vourlakou C, et al. Pulmonary actinomycosis masquerading as lung cancer: keep it in mind. *ANZ J Surg.* 2019;89(7-8):966-968.
- Parra ER, Villalobos P, Behrens C, et al. Effect of neoadjuvant chemotherapy on the immune microenvironment in non-small cell lung carcinomas as determined by multiplex immunofluorescence and image analysis approaches. *J Immunother Cancer.* 2018;6(1):48.
- Pataer A, Kalthor N, Correa AM, et al. Histopathologic response criteria predict survival of patients with resected lung cancer after neoadjuvant chemotherapy. *J Thorac Oncol.* 2012;7(5):825-832.
- Paz-Ares L, Luft A, Vicente D, et al. Pembrolizumab plus chemotherapy for squamous non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2018;379(21):2040-2051.
- Pillai RN, Behera M, Berry LD, et al. HER2 mutations in lung adenocarcinomas: a report from the Lung Cancer Mutation Consortium. *Cancer.* 2017;123(21):4099-4105.
- Ragazzi M, Tamagnini I, Bisagni A, et al. Diamond: immunohistochemistry versus sequencing in EGFR analysis of lung adenocarcinomas. *J Clin Pathol.* 2016;69(5):440-447.
- Raparia K, Ketterer J, Dalurzo ML, et al. Lung tumors masquerading as desquamative interstitial pneumonia (DIP): report of 7 cases and review of the literature. *Am J Surg Pathol.* 2014;38(7):921-924.
- Raymond E, Dahan L, Raoul JL, et al. Sunitinib malate for the treatment of pancreatic neuroendocrine tumors [published correction appears in *N Engl J Med.* 2011;364(11):1082]. *N Engl J Med.* 2011;364(6):501-513.
- Rimm DL, Han G, Taube JM, et al. A prospective, multi-institutional, pathologist-based assessment of 4 immunohistochemistry assays for PD-L1 expression in non-small cell lung cancer. *JAMA Oncol.* 2017;3(8):1051-1058.
- Scagliotti G, Brodowicz T, Shepherd FA, et al. Treatment-by-histology interaction analyses in three phase III trials show superiority of pemetrexed in non-squamous non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2011;6(1):64-70.
- Scagliotti GV, Parikh P, von Pawel J, et al. Phase III study comparing cisplatin plus gemcitabine with cisplatin plus pemetrexed in chemotherapy-naive patients with advanced-stage non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2008;26(21):3543-3551.

- Schoenfeld AJ, Chan JM, Kubota D, et al. Tumor analyses reveal squamous transformation and off-target alterations as early resistance mechanisms to first-line osimertinib in EGFR-mutant lung cancer. *Clin Cancer Res*. Published online January 7, 2020. doi:10.1158/1078-0432.CCR-19-3563
- Schrock AB, Li SD, Frampton GM, et al. Pulmonary sarcomatoid carcinomas commonly harbor either potentially targetable genomic alterations or high tumor mutational burden as observed by comprehensive genomic profiling. *J Thorac Oncol*. 2017;12(6):932-942.
- Seymour L, Le Teuff G, Brambilla E, et al. LACE-Bio: Validation of predictive and/or prognostic immunohistochemistry/histochemistry-based biomarkers in resected non-small-cell lung cancer. *Clin Lung Cancer*. 2019;20(2):66-73.e6.
- Sholl L. Molecular diagnostics of lung cancer in the clinic. *Transl Lung Cancer Res*. 2017;6(5):560-569.
- Skoulidis F, Goldberg ME, Greenawalt DM, et al. STK11/LKB1 mutations and PD-1 inhibitor resistance in KRAS-mutant lung adenocarcinoma. *Cancer Discov*. 2018;8(7):822-835.
- Socinski MA, Jotte RM, Cappuzzo F, et al. Atezolizumab for first-line treatment of metastatic nonsquamous NSCLC. *N Engl J Med*. 2018;378(24):2288-2301.
- Stathis A, Zucca E, Bekradda M, et al. Clinical response of carcinomas harboring the BRD4-NUT oncoprotein to the targeted bromodomain inhibitor OTX015/MK-8628. *Cancer Discov*. 2016;6(5):492-500.
- Stewart PA, Welsh EA, Slebos RJC, et al. Proteogenomic landscape of squamous cell lung cancer. *Nat Commun*. 2019;10(1):3578.
- Strosberg J, El-Haddad G, Wolin E, et al. Phase 3 trial of <sup>177</sup>Lu-dotatate for midgut neuroendocrine tumors. *N Engl J Med*. 2017;376(2):125-135.
- Subbiah V, Velcheti V, Tuch BB, et al. Selective RET kinase inhibition for patients with RET-altered cancers. *Ann Oncol*. 2018;29(8):1869-1876.
- Thatcher N, Hirsch FR, Luft AV, et al. Necitumumab plus gemcitabine and cisplatin versus gemcitabine and cisplatin alone as first-line therapy in patients with stage IV squamous non-small-cell lung cancer (SQUIRE): an open-label, randomised, controlled phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2015;16(7):763-774.
- Travis WD, Dacic S, Wistuba I, et al. IASLC multidisciplinary recommendations for pathologic assessment of lung cancer resection specimens after neoadjuvant therapy. *J Thorac Oncol*. 2020;15(5):709-740.
- Tsao MS, Hirsch FR, Yatabe Y, eds. *IASLC Atlas of ALK and ROS1 Testing in Lung Cancer*. 2nd ed. IASLC; 2016.
- Tsao MS, Marguet S, Le Teuff G, et al. Subtype classification of lung adenocarcinoma predicts benefit from adjuvant chemotherapy in patients undergoing complete resection. *J Clin Oncol*. 2015;33(30):3439-3446.
- Tsao MS, Yatabe Y. Old soldiers never die: is there still a role for immunohistochemistry in the era of next-generation sequencing panel testing?. *J Thorac Oncol*. 2019;14(12):2035-2038.
- Vennapusa B, Baker B, Kowanzet M, et al. Development of a PD-L1 complementary diagnostic immunohistochemistry assay (SP142) for atezolizumab. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2019;27(2):92-100.
- Vokes NI, Liu D, Ricciuti B, et al. Harmonization of tumor mutational burden quantification and association with response to immune checkpoint blockade in non-small-cell lung cancer. *JCO Precis Oncol*. 2019;3:10.1200/PO.19.00171.
- Warth A, Muley T, Meister M, et al. The novel histologic International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society classification system of lung adenocarcinoma is a stage-independent predictor of survival. *J Clin Oncol*. 2012;30(13):1438-1446.
- Woodard GA, Jones KD, Jablons DM. Lung cancer staging and prognosis. *Cancer Treat Res*. 2016;170:47-75.
- Yao JC, Shah MH, Ito T, et al. Everolimus for advanced pancreatic neuroendocrine tumors. *N Engl J Med*. 2011;364(6):514-523.
- Zhu CQ, Shih W, Ling CH, Tsao MS. Immunohistochemical markers of prognosis in non-small cell lung cancer: a review and proposal for a multi-phase approach to marker evaluation. *J Clin Pathol*. 2006;59(8):790-800.
- Zhu CQ, Tsao MS. Prognostic markers in lung cancer: is it ready for prime time? *Transl Lung Cancer Res*. 2014;3(3):149-158.



# 免疫組織化学の原則

# 3

執筆者：Erik Thunnissen, Alain C. Borczuk

## はじめに

免疫組織化学 (IHC: Immunohistochemistry) は、組織切片のタンパク質を可視化する手法です。細胞検体の細胞に対する同様のアプローチは免疫組織化学と呼ばれています。IHCでは、一次抗体の変換領域が抗原を認識し結合します。これはタンパク質エピトープであることが一般的です。これらのエピトープは二次および三次タンパク質構造を反映することができますが、現在、4-25アミノ酸のペプチドに対してはモノクローナル抗体がより頻繁に開発されているため (2009年 Saper氏)、抗原回復後のホルマリン固定組織での検出がさらに容易になりました。一次抗体とそれに続く化学反応に結合する二次抗体を使用して、エピトープの局在化、すなわちシグナル増強と呼ばれるプロセスを可視化します。IHC染色の箇所は、顕微鏡を使用して組織環境内で検出されます。IHC染色は、細胞膜上、細胞質内、核内など、細胞上や細胞内にて1箇所または複数個所で確認できます。IHCは迅速で比較的安価な手法で、主に組織構造と腫瘍細胞の評価が可能なることから、多くの病理医に利用されています (2017年 Tsao氏他)。

## 免疫組織化学のプロトコルと手順

IHCの分析に関する主な手順は、(1) エピトープ回復、(2) 一次抗体との培養、(3) シグナル増強と可視化システムです (2013年 Taylor氏および Rudbeck氏)。通常、組織切片は特殊コーティングを施したスライドガラスに載せられ、IHCの手順中は組織片をガラスに固着させておきます。エピトープ回復は、固定の手順中にマスキングされている抗原を回復 (アンマスク) させるために実施します。たいていの場合、これらの手法では、固定によって生じるタンパク質架橋を逆にするために、高pHまたは低pHの熱を組み合わせで行われます。より集中的な手法では、プロテアーゼでタンパク質をより小さなペプチドエピトープに切断します。シグナル増強や可視化の手順中は外因性酵素が使用されるため、想定されるような機能的に類似している内在性酵素の効果はブロックの手順にて遮断されます。

一次抗体の可変領域は、関与するタンパク質のエピトープに結合します。培養中、一次抗体は結合を促す緩衝剤により希釈されます。安定した結果を得るには、培養手順中の温度と時間を標準化することが重要です。

また、一次抗体にも、**ダイレクト IHC**手順(第4章を参照)にて可視化の標識が付けられます。ただし、この技術でシグナルを詳細に検出するには、組織切片のエピトープ濃度を非常に高くする必要があります。

**間接 IHC**手法(第4章を参照)の場合、2回目の培養が必要となり、このときに二次抗体の可変領域が一次抗体の定常領域に結合します。二次抗体には、可視化に使用される酵素が含まれています。ダイレクト手法よりも間接IHC手法のほうがシグナル増強が強力で、エピトープ濃度を抑えて組織片からタンパク質を検出できることが示されています(2003年Prinsen氏他)。可視化に関する比較的最近の開発では、複数の二次抗体を含むデキストランポリマーと酵素が使用されています。このシグナル増強の手法の効果(単一の電球ではなく複数の電球のように)は、二次抗体の酵素による間接IHCよりも10~20倍強力で、エピトープ濃度をさらに下げても可視を維持できます。

増強部分の培養と洗浄後、色原体溶液を添加します。溶液の水溶性色原体は通常無色です。増強の手順で添加された酵素(西洋ワサビペルオキシダーゼまたはアルカリ性ホスファターゼなど)は、色原体を不溶性基質に変え、これが一次二次抗体複合体のスポットに沈殿(タンパク質の局在化)します。この沈殿物のサイズは、細胞内のエピトープの量と局在によって異なり、目に見える場合は、光学顕微鏡の分解能(500nmまたは0.5  $\mu\text{m}$ )とほぼ等しくなりますが、細胞質全体(20~30  $\mu\text{m}$ )が累積的に満たされることもあります。

IHCの可視化手順と洗浄後、核の対比染色が行われ、核と基礎となる組織構造が認識しやすくなります。主な手順間の洗浄手順は、未結合物や溶剤を洗浄し、組織切片の背景をきれいに保つことを目的としています。

その後、顕微鏡のスライドガラスの組織片を乾燥させ、封入剤(ガラスと同一の抵抗性指標1.5)と薄いガラスカバースリップで覆います。これにより、組織切片の上下面が同じようにガラスで平面化され、「水浸」による角度の影響が回避されます。

## 評価と解釈

さまざまな増強システムにおけるエピトープ濃度とシグナル強度の関係は、2003年にPrinsen氏らによって明らかにされました。詳しい説明は[図3-1](#)のとおりです。S字曲線の強度の違いは、半定量的に陰性、陽性(+)、二重陽性(++)、三重陽性(+++)に分類されます。最大強度(+++)で安定状態になると、エピトープ濃度がさらに上昇しても強度は上昇しません。陰性と+++の範囲は非常に狭く、エピトープ濃度の差異幅は、増幅システムに応じて2~4倍になります。定量的なタンパク質検出分析として、酵素結合免疫吸着検査法(ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay)を用いて対比を表すこともできますが、IHCは線形ダイナミックレンジ(S字曲線の急勾配部分、すなわち+と++の間の範囲)でのみ定量的になります。IHCが半定量的とされるのはこうしたことによるもので、この曲線の範囲のみとなるのです。そのため、シグナルが飽和状態になり、定量的にならなくなる可能性があります。

未分化リンパ腫キナーゼ(ALK: anaplastic lymphoma kinase) IHCに関する民間の分析において、チラミドシグナル増幅を併せて使用すると、定性的なIHCがもたらされ

ました（結果として、急勾配S字曲線の箇所がほぼ垂直線になりました）。このセットアップでのIHC検査結果は、完全に定性的（陰性または陽性）と言えます（2014年Wynes氏他）。増幅システムを増強するほど、背景染色が増え、偽陽性の結果が生じる原因となります（2016年Ibrahim氏他）。

染色強度の測定には主観的な要素がありますが、強度レベルを確立するうえで物理的な補助として、固有の空間分解能を備えた連続的な顕微鏡対物レンズを使用することで、実際としてはこうした要素を減らすことは可能です。

この手法は、最初にヒト上皮成長因子受容体2（HER2: human epidermal growth factor receptor 2）検査に適用されますが、より均一な強度スコアリングをもたらす可能性があります（2010年Ruschoff氏他）。強い染色（+++）は、 $\times 2.5$ 倍率または $\times 5$ 倍率の顕微鏡対物レンズを使用するとはっきりと見えます。中程度の染色（++）をはっきり見るには、 $\times 10$ 倍率または $\times 20$ 倍率の対物レンズが必要になります。弱い染色（+）は、 $\times 40$ 倍率の対物レンズでのみ確認することができます（2013年Ruschoff氏他）。

### ウサギおよびマウスモノクローナル抗体

マウスモノクローナル抗体は広く使用されていますが、ウサギモノクローナル抗体が有するパフォーマンス特性により、ウサギモノクローナル抗体の使用も増えています。特に、ウサギの免疫システムは、マウスのシステムが反応しないヒトペプチドに反応し、一般的に高親和性の抗体を産生します。これは特に、抗体産生の抗原として使用されている小ペプチドに当てはまります（1998年Rief氏他、2017年Weber氏他）。

### 薬事未承認検査

診断や予測検査においては、利用可能な民間の分析が多くあります。予測検査の価格は診断検査よりもかなり高額ですが、民間の診断分析は、薬事未承認検査（LDT: laboratory-developed tests）よりもコストがかかるのが一般的です。多くの場合、研究室で予算が限られているときは、予測検査における経済的な事情により、民間の分析に代わりLDTの実施が奨励されます。

民間での分析の利点は、IHC分析/キットのほぼすべての面において厳密に検査が行われていて、分析の条件を決めることにより、時間内に安定した検査結果が得られることです。LDTも同じ規格で実施できるよう開発が必要です。

### IHCの標準化

理想的には、ELISAと同様に、IHC検査でもリファレンスまたはキャリブレーション標準が使用可能になるべきなのですが、日常の病理学でのIHCにおいてはそれがありません。サンプル調整（分析前変数）の不整合や試薬（分析変数）の不十分な検証がIHC

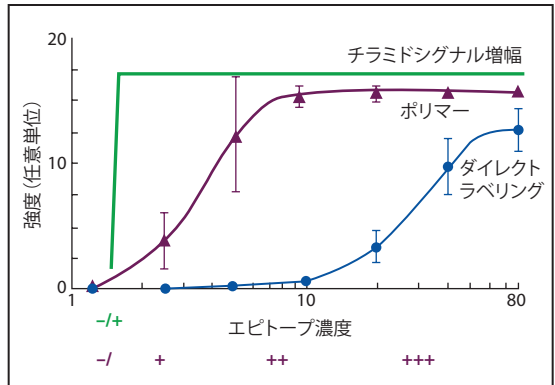


図3-1 免疫組織化学 (IHC) における抗体濃度とシグナル増強の関係。AU = 任意の単位。(2003年Prinsen氏らの許可を得て変更)



検査結果に影響を及ぼす可能性があるため(通常は低減させています)、標準化は必要です。

分析前変数のリストを構成する最低限の項目は次のとおりです:固定タイプ、固定時間、試薬と条件(脱水、洗浄、パラフィン浸透)、スライド乾燥と保存の条件(2011年Engel氏およびMoore氏)。固定中、中性緩衝ホルムアルデヒドの浸透速度は、小サンプルの場合は比較的速くなりますが(1mm/時間)(2014年Howat氏およびWilson氏)、肺胞壁間に空気の薄層が複数ある虚脱肺の場合はかなり遅くなります(0.2mm/時間)(2019年van Seijen氏他)。固定が遅れると、タンパク質の安定性が低下し、これによりIHCが阻害される可能性があります(2019年van Seijen氏他)。また、これによる悪影響は、基底膜の上皮剥離をはじめ、濃縮核やそれに近いものなど、ヘマトキシリン・エオジン染色の組織片にも及ぶ場合があります(2019年Radonic氏他)。これらのサンプルは、IHCの分析検証には使用できません。組織の取り扱いについては、第5章で詳しく説明します。

LDTを開発するには、エピトープ濃度が高い制御サンプルが役立ちます。これは、初期の頃の準最適な条件では陽性である必要があるためです。この制御が陽性の場合や、陰性制御(一次抗体の手順を除く全手順など)が陰性の場合、エピトープ濃度が低いサンプルのほうがLDTの微調整に役立ちます。

日常的なパフォーマンスの監視やIHC分析の検証に最適なサンプルとは、サンプル陽性(通常+)とされる閾値に近い十分なエピトープ濃度を持つサンプルです。特定の装置(培養温度や時間の制御など)でIHC手順を自動化することで、状態の安定性とIHC結果の堅牢性が大幅に向上し、一貫性のある結果が得られるようになります。

## IHCの検証

College of American Pathologists (CAP)の非予測型(診断型) IHC分析における初期分析の検証に関するガイドラインによると、研究室では、陽性および陰性組織をそれぞれ10個以上検査する必要があります(2014年Fitzgibbons氏他)。特定のマーカーにおいて、検証症例数が20件以下でも十分であると研究室の医長が判断する場合(稀な抗原、稀な陽性症例の示唆など)、その判断根拠を文書化する必要があります。診断目的においては、IHC分析に対し十分な品質を有しているサンプルが使用可能な場合、検査分析とのコンコーダンスも高い必要があります(100%が望ましいですが、感度と特異度は必然的に100%となります)。

(連続した)臨床サンプルを考慮する場合、制御可能な分析前因子が常に関与するとは限りません。これは「臨床的に実施されるすべての分析の初期検証において、検査室では新しい検査やコンパレーターテスト、または予測される結果との間で全体の90%以上のコンコーダンスを達成する必要がある」という推奨事項のとおりです(2014年Fitzgibbons氏他)。

研究室で開発されたすべての 予測 マーカー分析の初期分析検証について、研究室が実施する検査にて必要な陽性および陰性の症例数は、CAPの場合それぞれ20症例以上(2014年Fitzgibbons氏他)、Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)の場合それぞれ50症例以上(2008年Garrett氏他)となります。後者の場合、これらの数には信頼区間が短い任意構成が含まれます。他のガイドラインでは、この問題について言及されていないか、明確にされていません。(CAPとCLSIの)両ガイドラインでは、

コンパレータテストで90%のコンコーダンスについて言及されています。しかし、どちらのガイドラインにも難点があります。コンコーダンス率は、症例の構成に左右されま  
す。診断検査の *分析/技術的* 検証と予測検査の *臨床的* 検証の違いは、後者が特定の  
治療に対する予測反応に関連している点です。これについて、適切な検証には、抗原検  
出のための制御サンプルや実施範囲が分析に適していることが求められるため、LDT  
IHC検査の検証では、検査目的を明らかにする必要があります。この「目的に適合」とい  
う概念は、同じ抗体がこの原理に基づいて別の検証を必要とする可能性があるため、  
非常に重要です。たとえば、診断的有用性において適切な実施範囲であるためには、  
乳癌とリンパ球でのGATA3の検出の場合、抗原レベルでの差異に基づいた異なるプ  
ロトコルが必要になる場合があります(2017年a、Cheung氏他)。また、初期検証に加え  
て、LDTは新しい抗体ロット、新しい抗体クローン、プロトコルや検査装置の変更によ  
り再検証される可能性もあります。

非小細胞肺癌(NSCLC: non-small cell lung carcinoma)におけるプログラム細胞死リ  
ガンド-1 (PD-L1: programmed death ligand-1) IHCの場合、この予測検査はランダム化  
第3相臨床試験の臨床データによって直接検証されるため、強度問わず膜性染色が腫  
瘍細胞の50%以上で認められる場合は陽性と見なされます(2016年Reck氏他)。概念的  
には、第3相試験のサンプルを使用した臨床検証(患者の転帰がある)と新しいPD-L1分  
析のパフォーマンスとの比較は、前進するための方法です。ただし、これらの研究からの  
腫瘍組織(主に少量生検)の入手は限られていて、広範な検査は禁止されています。もう  
1つの手法は、検証済み試験の閾値が臨床転帰に関連しているため、第3相試験で使用  
されている同じPD-L1において民間の分析での検証検査を比較することです。この手法  
では、民間の分析には時間と場所に堅牢性があることを前提にしています。

最近になって、PD-L1 IHCの *臨床* 検証の実施方法に関するより具体的なガイド  
スが初めて提供されました(2019年a、Thunnissen氏)。これを行うには、検証済み分析  
の閾値に近いエピトープ濃度を持つ決定的なサンプル(2018年Thunnissen氏他、2019  
年b、Thunnissen氏)が適しています。実用的な手法は、概念的LDTと概要的診断検査  
にて、約20~40個の連続的な臨床サンプルをペアワイズ式で染色することです(2019  
年b、Thunnissen氏)。両方の分析があまり逸脱していなければ、スライド全体でサン  
プルの約80~90%が一致することになります。2~3個のサンプルにおいて、少なくとも  
限局性の不一致(強度における限局的な差異など)がある場合は、一次抗体濃度を増  
加または減少させるなど、LDTでさらに滴定する際に使用できます。したがって、新し  
いPD-L1検査は、臨床的に検証された検査と同じ強度で陽性になるはず(コンパ  
レータテスト)。この手順は、予測検査の *間接的臨床検証* とも呼ばれます。

両方のPD-L1分析間で偏差が大きい場合、通常、概念的LDTの場合は民間の分析  
に比べ染色がそれほど強くないか、まったく染色されません。また、不一致サンプルが  
多いということは、概念的LDTのさらなる改善も可能ということです。IHC手法のエ  
ピトープ回復やシグナル増強の手順を変更するなどして、より厳密に適応するよう検  
討することもできます。このプロセスをスムーズに行うには、新たなPD-L1検査用に予  
備の組織片をいくつか事前に切断しておくなど、丁寧な組織管理が有用です(2017年  
Bubendorf氏他)。その後は、適切なサンプルでの反復的な検査はすべて、当初の切断  
から数日または数週間以内に実施することが可能になります。

実際のところ、決定的なサンプルでのこの選択プロセスでは、PD-L1の不均質性が有効活用されます。同じ組織片でも、一部の腫瘍細胞が陰性であったり、さほど離れていないところでは陽性であったりすることがあります。同様に、一部の腫瘍細胞でPD-L1発現が高強度で見られる一方で、他の細胞で強い染色が見られない場合もあります。

エピトープ濃度が高いサンプルは、染色レベルが最大(+++)に達すると、他の多くのPD-L1分析に比べ、陽性になる傾向があります(2014年Fitzgibbons氏他)。胎盤は、米国食品医薬品局(FDA: U.S. Food and Drug Administration)が承認した分析(1つ以上)で推奨されている陽性対照です(VENTANA PD-L1 [SP263]分析、添付文書)。それにもかかわらず、このようなサンプルは日々の処理における変動を検出するにはあまり有用でないという概念により、胎盤内の高エピトープ濃度が外部陽性対照として適用される場合もあります(2019年Dodson氏他)。IHC検査の検証では、エピトープ濃度が高いサンプルのみを使用すると、誤った安心感が生じてしまうことがあります。制御として使用するサンプルは、検査目的に適合している必要があります(2017年a、Cheung氏他)。

エピトープ濃度が非常に低いサンプルは、PD-L1分析ではすべて陰性になります。そのため、エピトープ濃度が高い場合や、非常に低いかゼロの場合は、PD-L1検査のパフォーマンス比較をしても参考になりません。2つの検査間でコンコードランスが90%となる推測的な可能性は、50%のPD-L1陰性サンプルと40%の強力なPD-L1陽性サンプルを検査した場合に高くなります。同様に、2つのIHC検査を比較した場合のカッパ値は、診断外科病理学研究のカッパ値(0.6~0.7)に比べ非常に高くなります(0.8以上)。このように、この種の症例を選択すると、ほとんどの分析においてコンコードランスが得られてしまいますが、こうしたことが未だに幅広いサンプルで見られます。

以前、解析的な分析検証に関して、診断IHCの状況における側面をいくつか扱う4つの論文のシリーズ(2017年a、2017年b、Cheung氏他、2015年、2017年、Torlakovic氏他)の中で「immunohistochemistry critical assay performance controls (ICAPC)」の記述(2015年Torlakovic氏他)がありました。ICAPCと「決定的な」サンプルの違いは、後者には臨床反応に関連する閾値があることです。このことは、(非意図的に)ICAPCにも一部当てはまる場合がありますが、すべてのICAPCに当てはまるとは限りません。さらに、決定的なサンプルはほとんどの研究室でNSCLC症例の小シリーズ(~ n = 20-40)で検出できますが、その一方で、異種移植片などのICAPCは必ずしも各研究室で容易に実施できるわけではありません。予測検査の間接的臨床検証に関する術語は、臨床治療協会のためだけでなく、病院管理者との議論のためにも、従来の「診断検証」よりも予測IHC検証に適しています。各診断カテゴリ内の予測検査は診断検査の「アドオン」として、本質的に異なる治療オプションに関するアドバイスをを行います(既存の診断予算からさらに追加予算が必要になります)。

## 品質保証

先述の内部品質保証対策に加えて、IHCの適切なパフォーマンスを確保するためには、外部品質保証が不可欠です。外部品質評価(EQA: external quality assessment)の目的は、第三者機関(EQAプロバイダー)のサポートを受けて、診断または予測検査のパフォーマンスを確立することです。基本的に、EQAプロバイダーはさまざまな研究室に検査サンプルを配布し、真陽性、偽陽性、真陰性、偽陰性などの検査結果を評価しま



す。成功するためには、研究室にて一定数の適切な検査結果をスコアリングする必要があります(2013年van Krieken氏他)。

国によっては、こうした研究室による参加と、許容レベルでのパフォーマンスが義務付けられています。EQAへの参加には、第三者による分析検証の利点があります。特に最適な検査サンプル(安定した低陽性[+]サンプル)がない場合、IHC検査において質の緩慢な低下が気付かないうちに発生することがあります。このような場合、EQAに参加していると、こうしたパフォーマンスの低下を検出することができます。

当初、予測EQAのプロバイダーは地域規模で活動していました(2011年Thunnissen氏他、2011年、2013年Normandno氏他、2016年Scheel氏他)。EQAは10年以上にわたり、欧州病理学会(2014年Tembuysen氏他、2018年Keppens氏他)、U.K. National External Quality Assessment Service (UK NEQAS) (2016年Ibrahim氏他、2019年Dodson氏他)、Nordiqc (2016年Vyberg氏およびNielsen氏)、CAPなど(2014年Patton氏他)、国際レベルで実施されています。初期のEQAラウンドでは、LDT検査のスコアが低くなる場合がありますが、習得期間が終了する頃には、LDTはその後のEQAラウンドにおいてFDA承認済み分析と同等のパフォーマンスを発揮することができます(2018年Adam氏他)。

## 結論

IHCは強力な診断ツールであり、病理腫瘍の分類や起源臓器に関連する抗原の検出において、プロトコルは堅牢になってきました。ただし、基本的な手法は定量的ではなく定性的です。それでも、丁寧なプロトコル構築や検証により半定量的の評価を行うことができます。検証手法がさらに明確になり、診断および予測領域でLDTをサポートすることもできるようになっています。

## 参考文献

- Adam J, Le Stang N, Rouquette I, et al. Multicenter harmonization study for PD-L1 IHC testing in non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol*. 2018;29(4):953-958.
- Bubendorf L, Lantuejoul S, de Langen AJ, et al. Nonsmall cell lung carcinoma: diagnostic difficulties in small biopsies and cytological specimens. In: Dorfmueller P, Cavazza A, eds. *Pathology for the Clinician*, vol 2. *Eur Respir Rev*. 2017;26(144):170007.
- Cheung CC, D'Arrigo C, Dietel M, et al. Evolution of quality assurance for clinical immunohistochemistry in the era of precision medicine: part 1: fit-for-purpose approach to classification of clinical immunohistochemistry biomarkers. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2017;25(1):4-11. (a)
- Cheung CC, D'Arrigo C, Dietel M, et al. Evolution of quality assurance for clinical immunohistochemistry in the era of precision medicine: part 4: tissue tools for quality assurance in immunohistochemistry. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2017;25(4):227-230. (b)
- Dodson A, Parry S, Lissenberg-Witte B, et al. External quality assessment demonstrates that PD-L1 22C3 and SP263 assays are systematically different. *J Pathol Clin Res*. Published online December 17, 2019. doi:10.1002/cjp.2.153
- Engel KB, Moore HM. Effects of preanalytical variables on the detection of proteins by immunohistochemistry in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. *Arch Pathol Lab Med*. 2011;135(5):537-543.
- Fitzgibbons PL, Bradley LA, Fatheree LA, et al. Principles of analytic validation of immunohistochemical assays: guideline from the College of American Pathologists Pathology and Laboratory Quality Center. *Arch Pathol Lab Med*. 2014;138(11):1432-1443.
- Garrett PE, Lasky FD, Meier KL. *User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline*. 2nd ed. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI); 2008.
- Howat WJ, Wilson BA. Tissue fixation and the effect of molecular fixatives on downstream staining procedures. *Methods*. 2014;70(1):12-19.
- Ibrahim M, Parry S, Wilkinson D, et al. ALK immunohistochemistry in NSCLC: discordant staining can impact patient treatment regimen. *J Thorac Oncol*. 2016;11(12):2241-2247.

- Keppens C, Tack V, Hart N, et al. A stitch in time saves nine: external quality assessment rounds demonstrate improved quality of biomarker analysis in lung cancer. *Oncotarget*. 2018;9(29):20524-20538.
- Normanno N, Pinto C, Castiglione F, et al. KRAS mutations testing in colorectal carcinoma patients in Italy: from guidelines to external quality assessment. *PLoS One*. 2011;6(12):e2916.
- Normanno N, Pinto C, Taddei G, et al. Results of the first Italian external quality assurance scheme for somatic EGFR mutation testing in non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2013;8(6):773-778.
- Patton S, Normanno N, Blackhall F, et al. Assessing standardization of molecular testing for non-small-cell lung cancer: results of a worldwide external quality assessment (EQA) scheme for EGFR mutation testing. *Br J Cancer*. 2014;111(2):413-420.
- Prinsen CF, Klaassen CH, Thunnissen FB. Microarray as a model for quantitative visualization chemistry. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2003;11(2):168-173.
- Radonic T, Dickhoff C, Mino-Kenudson M, et al. Gross handling of pulmonary resection specimen: maintaining the 3-dimensional orientation. *J Thorac Dis*. 2019;11(suppl 1):S37-S44.
- Reck M, Rodriguez-Abreu D, Robinson AG, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for PD-L1-positive non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2016;375(19):1823-1833.
- Rief N, Waschow C, Nastainczyk W, et al. Production and characterization of a rabbit monoclonal antibody against human CDC25C phosphatase. *Hybridoma*. 1998;17(4):389-394.
- Ruschoff J, Dietel M, Baretton G, et al. HER2 diagnostics in gastric cancer-guideline validation and development and standardized immunohistochemical testing. *Virchows Arch*. 2010;457(3):299-307.
- Ruschoff J, Kerr KM, Grote HJ, et al. Reproducibility of immunohistochemical scoring for epidermal growth factor receptor expression in non-small cell lung cancer: round robin test. *Arch Pathol Lab Med*. 2013;137(9):1255-1261.
- Saper CB. A guide to the perplexed on the specificity of antibodies. *J Histochem Cytochem*. 2009;57(1):1-5.
- Scheel AH, Dietel M, Heukamp LC, et al. Harmonized PD-L1 immunohistochemistry for pulmonary squamous-cell and adenocarcinomas. *Mod Pathol*. 2016;29(10):1165-1172.
- Taylor CR, Rudbeck L. *Immunohistochemical Staining Methods*. Dako; 2013.
- Tembuysen L, Tack V, Zwaenepoel K, et al. The relevance of external quality assessment for molecular testing for ALK positive non-small cell lung cancer: results from two pilot rounds show room for optimization. *PLoS One*. 2014;9(11):e112159.
- Thunnissen E. How to validate predictive immunohistochemistry testing in pathology? A practical approach exploiting the heterogeneity of programmed death ligand-1 present in non-small cell lung cancer. *Arch Pathol Lab Med*. 2019;143(1):11-21. (a)
- Thunnissen E. In Reply. *Arch Pathol Lab Med*. 2019;143(8):909-910. (b)
- Thunnissen E, Allen TC, Adam J, et al. Immunohistochemistry of pulmonary biomarkers: a perspective from members of the pulmonary pathology society. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(3):408-419.
- Thunnissen E, Bovee JV, Bruinsma H, et al. EGFR and KRAS quality assurance schemes in pathology: generating normative data for molecular predictive marker analysis in targeted therapy. *J Clin Pathol*. 2011;64(10):884-892.
- Torlakovic EE, Cheung CC, D'Arrigo C, et al. Evolution of quality assurance for clinical immunohistochemistry in the era of precision medicine. Part 3: technical validation of immunohistochemistry (IHC) assays in clinical IHC laboratories. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2017;25(3):151-159.
- Torlakovic EE, Nielsen S, Francis G, et al. Standardization of positive controls in diagnostic immunohistochemistry: recommendations from the International Ad Hoc Expert Committee. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2015;23(1):1-18.
- Tsao MS, Kerr KM, Dacic S, et al, eds. *IASLC Atlas of PD-L1 Immunohistochemistry Testing in Lung Cancer*. IASLC; 2017.
- van Krieken JH, Normanno N, Blackhall F, et al. Guideline on the requirements of external quality assessment programs in molecular pathology. *Virchows Arch*. 2013;462(1):27-37.
- van Seijen M, Brcic L, Gonzales AN, et al. Impact of delayed and prolonged fixation on the evaluation of immunohistochemical staining on lung carcinoma resection specimen. *Virchows Arch*. 2019;475(2):191-199.
- Vyberg M, Nielsen S. Proficiency testing in immunohistochemistry—experiences from Nordic Immunohistochemical Quality Control (NordiQC). *Virchows Arch*. 2016;468(1):19-29.
- Weber J, Peng H, Rader C. From rabbit antibody repertoires to rabbit monoclonal antibodies. *Exp Mol Med*. 2017;49(3):e305.
- Wynes MW, Sholl LM, Dietel M, et al. An international interpretation study using the ALK IHC antibody D5F3 and a sensitive detection kit demonstrates high concordance between ALK IHC and ALK FISH and between evaluators. *J Thorac Oncol*. 2014;9(5):631-638.

# 免疫組織化学における手法と技術

執筆者：David M. Hwang、Kurt A. Schalper、Sanja Dacic

## はじめに

ここ数十年にわたる免疫組織化学の手法と技術における大きな進歩により、免疫組織化学染色で得られた情報の自動化や強化が進んでいます。この章では、検出および増幅システム、自動染色装置、デジタル画像および形態測定アプリケーション、免疫組織化学における新しい技術について説明します。

## 免疫組織化学の基本原則

抗体と抗原の結合は、蛍光標識（免疫蛍光検査）や発色基質のいずれかを使用して検出することができます。胸部腫瘍における臨床免疫組織化学染色の大部分では、蛍光標識ではなく発色基質が使用されるため、この章では発色の手法に注目します。

免疫組織化学の反復適用において、初期の頃は西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP: horseradish peroxidase）や、酸性またはアルカリ性ホスファターゼ（AP: acid (or alkaline) phosphatase）が使用され（1966年、1967年Nakane氏およびPierce氏）、抗体結合の部位にて発色基質の酵素沈着ができるようになりました。現在、多くの発色基質が使用可能ですが、最も一般的に使用されているのは、西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）で褐色の沈着を生成する 3,3'-ジアミノベンジジン（DAB: 3,3'-diaminobenzidine）と、赤色の沈着を生成する3-アミノ-9-エチルカルバゾール（AEC: 3-amino-9-ethylcarbazole）です。

対象の検出は、ダイレクトまたは間接方式で行われます。ダイレクト検出では、抗原に対する一次抗体が検出対象として標識付けされます（[図4-1A](#)）。ただし、ダイレクト検出は感度が限定的で、通常は高発現タンパク質にのみ適用されるため、臨床アプリケーションでは間接検出方式のほうが一般的です。間接検出方式では、一次抗体は標識付けされず、一次抗体が生成された種を対象とする二次抗体が検出対象として標識付けされます（[図4-1B](#)）。複数の二次抗体分子が1つの一次抗体分子と結合し、これによりシグナルの増幅度と検出感度が向上します。また、間接的方式を用いることで、少数

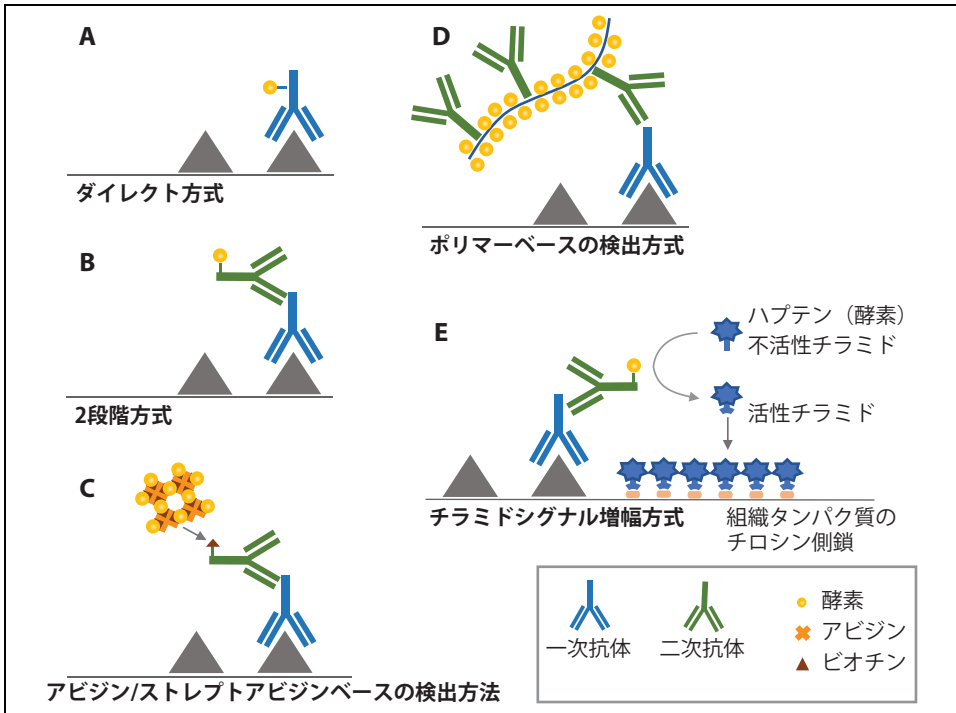


図4-1免疫組織化学検出のさまざまな方式。(A) 酵素結合の一次抗体を用いたダイレクト方式。(B) 一次抗体特有のハプテン標識の二次抗体を用いた2段階方式。(C) ビオチン化二次抗体を使用して、一次抗体をアビジン、ストレプトアビジン、酵素の巨大複合体に結合するアビジン/ストレプトアビジンベースの検出方式。(D) ポリマー結合の二次抗体を介したポリマーベースの検出方式。(E) 組織のチロシン側鎖へのビオチン化チラミドの沈着を利用したチラミド増幅方式。抗体標識のペルオキシダーゼによるフリーラジカル形成により活性化されます。

の種を対象にした二次抗体(抗マウス、抗ウサギなど)で多様な抗原を検出することもできるようになり、一次抗体ごとに標識付けする必要や、一次抗体の標識付けによる抗原結合への影響がなくなります。

なお、シグナル増幅を増やして感度をさらに高めるさまざまな手法が開発されていますので、以下にて説明します。

### アビジン/ストレプトアビジン-ビオチン検出の酵素複合体

これらの複合体には、アビジン-ビオチン複合体(ABC: avidin-biotin complex)と、標識ストレプトアビジン-ビオチン(LSAB: labeled streptavidin-biotin)法が含まれています(図4-1C)。どちらの手法でも、ビオチン化二次抗体を一次抗体と結合した後、ビオチン化検出酵素(HRP、AP など)がアビジン(ABC法)またはストレプトアビジン結合検出酵素(LSAB法)と複合化され、抗原結合部位における検出酵素分子や発色基質の数が大幅に増加します。これらの手法においては、アビジンやストレプトアビジンと、組織内の内因性ビオチンまたはレクチン様分子との結合が制限されているため、非特異的バックグラウンド染色が増加する可能性があります。

### ポリマーと、ビオチンベース以外の検出の複合体

ビオチンベースのアプローチに関連するいくつかの問題を回避するために、ビオチンベース以外の検出方法が数多く開発されました(図4-1D)。ポリマーベース



のアプローチでは、複数の二次抗体や検出酵素分子がデキストランポリマーのバックボーンに結合され、これにより、Envision (Agilent Dako)キットや *ultraView Universal DAB*検出キット (Roche Tissue Diagnostics) など、幅広く使用されている検出キットの基礎が生まれました。ポリマー複合体の大型化により組織の浸透力が阻害される可能性があるため、一部のプロトコルでは、一次抗体とポリマー間で二次抗体 (リンカー) を使用して感度を向上させます。これは、Dako PD-L1 IHC 22C3 pharmDx分析で使用されるアプローチです。

OptiView検出システム (Roche Tissue Diagnostics) では、ビオチンベース以外の別のアプローチが採用されました。このシステムでは、二次抗体が非内因性ハプテン (3-ヒドロキシ-2-キノキサリン [HQ]) の複数の分子で標識付けされ、検出にはHRP標識抗HQ抗体が使用されています (2013年Nitta氏他)。

### 触媒シグナル増幅法

従来HRP酵素は、発色基質を生成するために使用されていましたが、触媒シグナル増幅法 (CSA: catalyzed signal amplification) では、これを最初に使用して、より多くの結合部位で新たな酵素分子を補充できるような別の化学反応を促進します (図4-1E)。たとえば、過酸化水素が存在する場合、HRPはビオチン化したチラミドを酸化させ、それに反応する遊離基種を生成し、その結果、周辺組織にビオチンが沈着します。このとき、この沈着したビオチンで、アビジンまたはストレプトアビジン-ビオチン-酵素複合体を増やしながらか、新たな検出酵素分子を補充します。これにより、シグナル増幅は先述の一般的なABC法の1000倍 (最大) になります (2017年Ramos-Vara氏)。この手法の変形版は、HQチラミドがビオチン化チラミドに代わり、OptiView増幅システム (Roche Tissue Diagnostics) で活用され、OptiView検出システムとともに、VENTANA ALK (D5F3) CDx分析にて使用されています (2013年Nitta氏他)。

### 免疫組織化学の自動染色装置

手作業での免疫組織化学は、時間と労力を要するプロセスです。染色された各スライドにおいては、手作業でのインタラクションが100件にも及び、それぞれにおいてばらつきやエラーの可能性を有しています。これらの手順のほとんど、またはすべてを自動化することで、染色に必要な技術者の時間が大幅に短縮され、コストも削減され、さらに各個人や個人間での整合性が高まるので、品質も向上します。

1980年代後半に免疫細胞化学染色初のロボットワークステーションが誕生して以来 (1988年Brigati氏他)、免疫組織化学の自動染色装置が普及し、臨床研究室で使用されるようになりました。現在、複数のプラットフォームが利用できますが、それぞれに長所と短所があるので、アプリケーションによって最適な自動染色装置が異なります (表4-1)。研究室では、特定のニーズと要件に最適な自動染色装置を選択する必要があります (2014年Prichard氏、2008年Myers氏)。これに関して、次のことが考慮事項として挙げられます。

### サイズ

自動染色装置にはさまざまなサイズがあり、空きスペースに応じて、卓上型や床置き型のいずれかを選べます。

表4-1一般的に使用される自動免疫組織化学プラットフォームの比較

	卓上型		床置き型			
	Agilent Dako	Leica	Agilent Dako	Leica	Roche	Roche
	Autostainer	Bond Max	Omnis	Bond III	BenchMark XT	BenchMark ULTRA
<b>自動染色方法</b>						
スライドベーキング	いいえ	はい	いいえ	はい	はい	はい
脱ろう	いいえ	はい	はい	はい	はい	はい
オンボード加熱	いいえ	はい	はい	はい	はい	はい
オンボードin situ/ハイブリダイゼーション	いいえ	DNA/RNA	DNA/RNA	DNA/RNA	DNA/RNA	DNA/RNA
<b>寸法</b>						
サイズ (幅×奥行き×高さ)、cm	89×66×68	76×77.5×70.3	150×80×177	79×80.6×137.8	89×66×153	112×84×159
<b>スライド管理</b>						
スライド容量	48	30	60	30	30	30
バッチサイズ、スライド	4×12	3×10	12×5	3×10	1×30	30×1
免疫組織化学(IHC)における 処理能力/24時間	144	90	165	90/120	90	90
<b>試薬</b>						
ポジション	42	36	60	36	35	35
温度制御	いいえ	いいえ	はい	いいえ	いいえ	いいえ
オープンシステム	はい	一次抗体	一次抗体	一次抗体	一次抗体+ 酵素	一次抗体+ 酵素

出典：2017年De Wiest氏およびvan Hecke氏。

## オープンシステムとクローズドシステム

自動染色装置には、試薬の選択やプロトコルにおいて柔軟性に優れているものと(オープン システム)、使用できる試薬やプロトコルの種類やソースが限られているものがあります(クローズド システム)。オープンシステムの場合は、多数のマーカー(研究や設計の環境など)に対して新しい染色プロトコルを開発し、最適化する必要がある環境において有用です。一方、クローズドシステムの場合は、標準化された試薬やプロトコルを使用することで、再現性を最大限に高め、作業時間を最小限に抑えるのに適しています。

## スループットとバッチサイズ

一般的に、スループットは自動化されたプラットフォームを評価する際の主な考慮事項となり、主にスライド容量と実行時間のキャパシティーとして考えられています。ただし、莫大な量のスライドを処理することだけでなく、さまざまなテストやプロトコルを実行する必要があることも考慮する必要があります。プラットフォームによって、バッチサイズに対する柔軟性もさまざまだからです。この場合、バッチ内の全スライドの染色プロトコルを類似させておく必要があります。これにより、新しいスライドを染色や実行時間に最適に組み込むことができるようになります。

## その他の機能

自動染色装置が異なれば、提供される機能性も異なります。たとえば、オンボードスライドベーキング、脱パラフィン、加熱(抗原回収用)、in situハイブリダイゼーション(ISH: in

situ hybridization)などが挙げられます。こうした付加的な機能性により、整合性が向上し手作業の時間が削減されますが、実行時間が延びてしまう場合もあります。自動染色装置の詳細については、文献にてご確認ください(2014年Prichard氏、2008年Myers氏)。

## デジタル画像と形態計測分析

目覚ましい発展により、全スライドの組織プレパラートにおいて高速かつ正確なデジタル化が実現していますが、この発展は、病理学の実践における形態学や免疫組織化学のさらなる役割もサポートしています。ヘマトキシリン・エオジン染色や免疫組織化学のデジタルスライド(または 仮想スライド)は現在、一次診断、バイオマーカー評価、症例検討会、リモートでの症例評価、セカンドオピニオンの相談、教育研究、症例ストレージなど多様な目的で使用されています。(2013年Pantanowitz氏他、2018年Evans氏他、2019年Liu氏およびPantanowitz氏)。多様なデジタルスライド画像プラットフォームが市販されるようになり、臨床用途に関する規制認可または許可を受けているプラットフォームもあります(2019年Liu氏およびPantanowitz氏)。これにより、世界中でデジタル病理が採用されるようになり、中には仮想スライドに特化したさえ機関あります。また、デジタルサンプルが利用可能になったことで、計算ツールの使用が促され、より詳細な形態分析や不確定要素の定量的評価が実現しています。こうした開発により、免疫組織化学の範囲が大きく広がりましたが、一方で新たな問題や課題も生じています。

## 一次診断およびバイオマーカー評価におけるデジタル免疫組織化学

診察室でのデジタルスライドの使用については、それぞれの現場や施設を管理する規制状況との関係があり、世界各地の当局間で定義や要件の違いが見られます(2013年Pantanowitz氏他、2018年Evans氏他、2019年Garcia-Rojo氏他、2015年Zhao氏他)。たとえば、デジタル病理学は、ヘマトキシリン-エオジンプレパラートの顕微鏡診断に関する非劣性試験に基づく外科病理学の一次診断において、2017年に米食品医薬品局(FDA: U.S. Food and Drug Administration)により初の承認を受けました(2018年Evans氏他)。デジタル免疫組織化学スライドの使用については、別の臨床用途においては可能性がありますが、一次診断用には検討されていません。一般的に免疫組織化学は分化マーカーを同定したり、予後または予測バイオマーカー検出の診断を精密化したり補完したりする用途で使用されています(以下の「定性分析と定量分析」の項を参照)。これにより、研究室や分析の適正が検証され、品質管理要件が満たされている限り、免疫組織化学スライドのデジタル分析の実施においては、FDA認可やFDA非認可のいずれかのプラットフォーム(薬事未承認検査など)で運用することができます。米国では、デジタル免疫組織化学検査において、正確性、精度、再現性の評価などのCollege of American Pathologists (CAP)の基準を満たす必要があります(2018年Evans氏他)。デジタル病理学システムは、バイオマーカーを自動評価する免疫組織化学や特定のソフトウェアなど、幅広い臨床用途に対応できるように、EUより体外診断の認定(Conformit é Europ é enne [CE]など)を受けています(2019年Garcia-Rojo氏他)。

## 定性分析と定量分析

通常、免疫組織化学スライドの解釈は、形態的特徴の状況で分析された光学顕微鏡検査での発色反応からの定性的または半定量的な目測に基づいています。ケラチン、甲

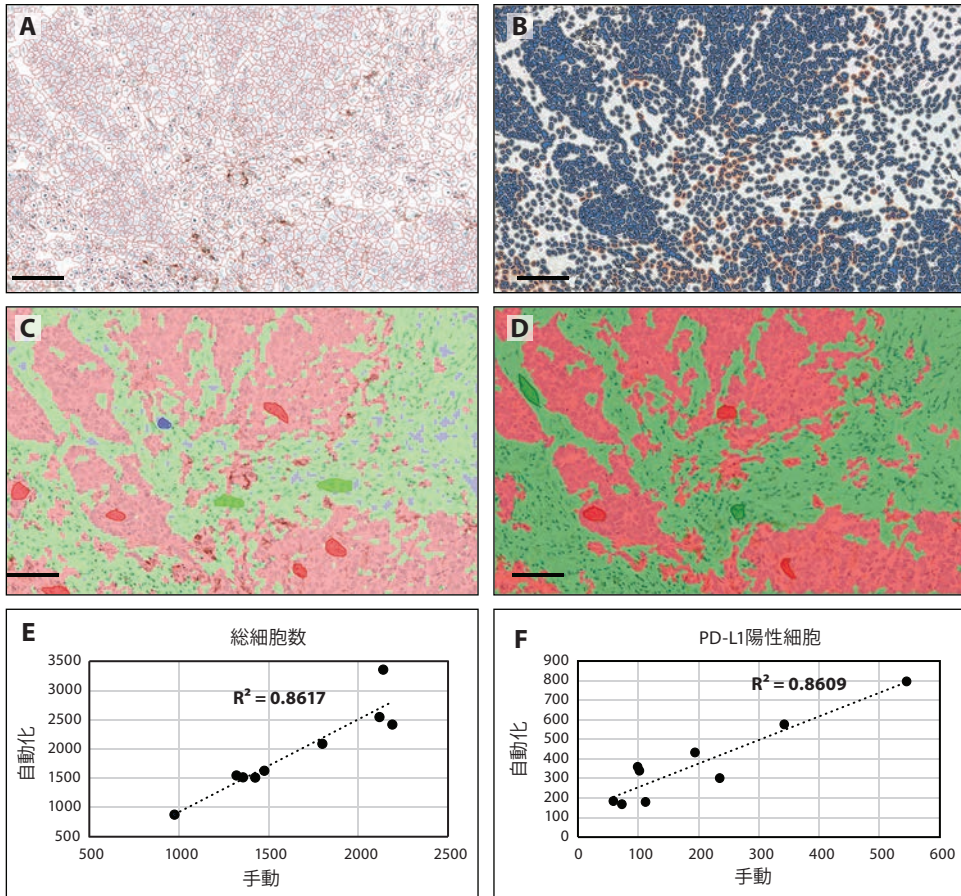
状腺転写因子-1 (TTF1)、p63/p40などの多くの分化マーカーでは、比較的簡素なバイナリー評価 (陽性か陰性かなど) が必要です。プログラム細胞死リガンド-1 (PD-L1: programmed death ligand-1)、未分化リンパ腫キナーゼ (*ALK: anaplastic lymphoma kinase*)、C-Ros癌遺伝子1 (*ROS1: c-ros oncogene 1*)、ヒト上皮成長因子受容体2 (*ERBB2*または*HER2*)、ホルモン受容体などの予測またはコンパニオンバイオマーカーでは、大量の発現や染色度など、さらに複雑な評価が求められます。病理医による評価の主観的性質は、分析の簡易性、効率性、費用対効果 において多くの利点をもたらします。しかし、研究室内の整合性や内部の病理医の調和には限界があります。

こうした限界を克服する方法としては、専門家ベースで標準化された分析とスコアリングのガイドラインの作成が挙げられます (2018年Lindeman氏他、2018年Wolff氏他、2019年Lantuejoul氏他、2019年Jain氏他、2016年Tsao氏他)。定量的な画像解析では、適切な実施により、組織マーカーの読み取り値を正確かつ高度な再現性で生成することができます (2019年Aeffner氏他)。多くの場合、高度な画像解析ツールでは、特徴抽出および機械学習セグメンテーションアルゴリズムを使用して、特定のサンプル領域、細胞、細胞以外の対象物に基づいてローカライズされた情報を取得します。症例全体で組織セグメンテーションや事象の正確な定量化を果たすには多くの課題が伴いますが、デジタル免疫組織化学スライドのスコアリングを実現する多様な自動定量分析アルゴリズムが長年確立され、乳癌のバイオマーカー (エストロゲン受容体[ER]、プロゲステロン受容体[PR]、*HER2*、*Ki-67*など) を評価する規制 (FDAなど) 認可も受けました。知る限りでは、胸部/気管悪性腫瘍のバイオマーカー検査において、臨床グレードの自動免疫組織化学スコアリングの装置やアルゴリズムは確立されていません。しかし、ソフトウェアアプリケーションは市販やオープンソースで多種多様となり、定量的組織バイオマーカー分析にも対応しています (Aperio ImageScope、InForm、Halo、QuPath、Cyto-Mine、Orbit、ImageJ/SlideJ、Visiopharmなど)。2種類の市販プラットフォームによる組織細胞/組織のセグメント化と自動細胞列挙を用いた非小細胞肺癌のPD-L1定量スコアの例は [図4-2](#)のとおりです。PD-L1免疫組織化学の自動評価の実現性に関する裏付けとして、市販の計測器やカスタムソフトウェアを使用した最近の研究では、肺癌検体における病理医ベースのスコアで比較的高いコンコーダンスが報告されています (2019年Taylor氏他、2019年Althammer氏他、2020年Widmaie氏他)。

### 機械学習、人工知能、スライド解釈

機械学習の手法では、反復的、高速、客観的、統計的に制御された方法で複雑なデータを分析することが可能になります。これにより、パターンの同定において介入する人の数を最小限に抑えられるようになり、異なる単位/次元での変数の統合も容易になります。さらに コンピューター 増強の手法によりデータセットの価値が高まります。(2019年Esteve氏他、2019年Bera氏他)。機械学習をデジタル病理学に適用することにより、組織セグメンテーションやマーカー/細胞の集計だけでなく、準視覚的形態パターンの同定、総合診断、予後/予測結果の取得などの高度なタスクを達成することもできるようになります。特に、複雑なニューラルネットワークを使用したディープラーニング解析については、画像表現のパターン認識における将来性が顕著で、対象分類のパフォーマンスにおいては人間レベルに達しています。この裏付けとして、デジタルヘマトキシリン-エオシン





**図4-2**プログラム細胞死リガンド-1 (PD-L1) で染色された非小細胞肺癌の自動組織分析。(A-C) 非小細胞肺癌の検体はPD-L1 (クローンE1L3N) で染色されると、InFormソフトウェアで (A) 自動細胞セグメント化、または (C) 組織セグメント化にかけられます (Akoya Biosciences)。(B-D) 非小細胞肺癌の検体はPD-L1で染色されると、Haloソフトウェアで (B) 自動細胞セグメント化、または (D) 組織セグメント化にかけられます (Indica Labs)。CとDについて、赤は腫瘍の部分を示し、緑は基質の部分を示します。Bar=300µm。(E-F) 表は、(E) キャプション内のすべての細胞、または (F) PD-L1での陽性細胞において手動または自動画像解析ソフトウェアで細胞を集計したときの相関関係を示しています。R<sup>2</sup>=線形回帰係数。

染色のプレパレート分析による非小細胞肺癌の症例で、PD-L1のステータスを正確に予測できるディープラーニングアルゴリズムが最近公表されました(2019年Sha氏他)。さらに、肺癌の核となる針生検の自動デジタルPD-L1免疫組織化学スコアには、生成敵対的ネットワークが使用されています(2018年Kapil氏他)。免疫組織化学などのデジタルスライドにおけるAIベースの自動診断を確立する取り組みが行われ、この概念を活用する企業がいくつも設立されています(中でもPathAI、Paige、Proscia、SpIntellXなど)。

### 免疫組織化学の新しい技術とプラットフォーム

最近の開発では、複数の対象を同時に染色/検出して、免疫組織化学分析のスループットを向上させることに重点が置かれています。多重化された免疫蛍光検査は、発色免疫組織化学のダイナミックレンジ限界を克服し、異なる発色基質からのシグナルを正確に分離する光学顕微鏡検査時の難点を回避できることから、最も有力なプラット

表4-2組織分析プラットフォームのプロパティ

プラットフォーム	免疫組織化学	免疫蛍光検査	質量細胞測定の画像化
シグナル生成	吸光度	光放射	質量タグのイオン電流
適切なFFPEサンプル	はい	はい	はい
線形/定量出力	いいえ	はい	はい
最適なマーカー数	1~2	1~6	30~35
ダイナミックレンジ	1ログ	2.5ログ	4~5ログ
最大解像度	200nm	200nm	1 $\mu$ m
シグナル過剰	+++	++	+
シグナル増幅	約300~3000タグ/ab (HRP-TSA)	約300~3000タグ/ab (HRP-TSA)	約160原子/ab
分析スループト	0.5分/mm <sup>2</sup> 未満の組織	0.5~1分/mm <sup>2</sup> の組織	1~2時間/mm <sup>2</sup> の組織

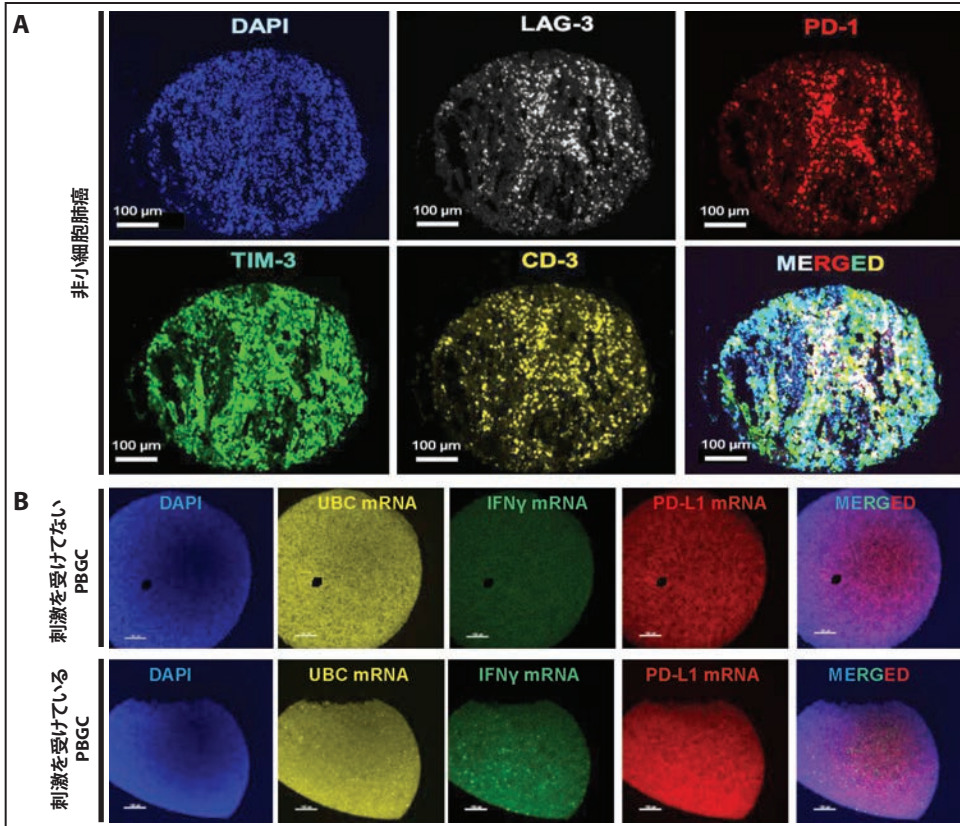
略語: ab=抗体、FFPE=ホルマリン固定パラフィン包埋、HRP=西洋ワサビペルオキシダーゼ、TSA=チラミッドシグナル増幅。

フォームとして登場しました(表4-2)。さらに、免疫蛍光検査により、バンドパスフィルターとスペクトル分離の手法で、異なる蛍光チャネルからマーカー特有のシグナルを選択的に取得することや、対象の線形/定量測定を行うことが可能になります(2015年Carvajal-Hausdorf氏他)。現在の多重化された定量的免疫蛍光検査のプロトコルでは、市販の試薬や機器により、異なる波長で最大6~7個のマーカーの定量を同時に検出したりシグナル送信したりできます。自動化および多重化された免疫蛍光検査プラットフォームは、ホルマリン固定パラフィン包埋の肺癌検体にて、腫瘍や免疫関連マーカーの客観的かつ限局的な測定に問題なく使用されています(2014年Velcheti氏他、2015年Carvajal-Hausdorf氏他、2015年Schalper氏他)。さらに、多重化された免疫蛍光検査のプロトコルは、タンパク質やメッセンジャーRNA (mRNA: messenger RNA)の写しなど、さまざまな分析の同時同定に対応することができます。この裏付けとして、腫瘍タンパク質マーカーと、PD-L1またはインターロイキン-8 (IL-8: interleukin-8) mRNAの写しの限局的な検出は、肺癌生検組織で問題なく測定されています(2014年Velcheti氏他、2017年Sanmamed氏他)。図4-3では、多重化された免疫蛍光検査パネルの標本画像にて、免疫関連タンパク質やmRNAの対象が同時に5個マッピングされています。最近では、1 $\mu$ mの分解能で30~40個(理論上は150個以上)の対象を用いる組織サンプルを定量的に調査する顕微鏡フォーマットに質量分析の技術が利用されました(2014年Giesen氏他)。この技術は「質量細胞測定の画像化」と呼ばれ(表4-2)、元素免疫組織化学とも言われています。この技術では、ランタニド系列元素と結合した一次抗体が使用され、市販もされています(Hyperion、Fluidigm Corporation)。また、金属結合抗体や複合イオンビームベースのイオン化(MIBI、IONpath)を用いた同様の技術も報告され、現在商品化中です(2014年Angelo氏他)。高度な計算手法を用いた高スループト、定量的な計測、対象の空間的な分離解析が統合されることにより、近い将来、病理医の医療設備が強化され、診断やバイオマーカー評価が向上することが期待されています。

## 結論

免疫組織化学の技術における近年の進歩により、エピトープ濃度(感度)やさまざまな分子にて検出範囲が拡大しています。さらに、自動染色装置により、実際の臨床で必要とされる高スループトで信頼性や再現性の高い染色が促進されています。現在、さま





**図4-3**肺癌の免疫蛍光検査で多種タンパク質またはメッセンジャーRNA (mRNA) の対象を同時検出。  
**(A)** 標本となる蛍光画像では、ホルマリン固定パラフィン包埋のヒト非小細胞肺癌において、4',6'-ジアミジノ-2-フェニルインドール(全細胞が 青色チャンネル)、CD3 (T細胞が 黄色チャンネル)、PD-1 (赤色チャンネル)、リンパ球活性化遺伝子3 (LAG-3) (白色チャンネル)、ムチンドメイン含有-3 (TIM-3) タンパク質 (緑色チャンネル) の発現が確認できます。**(B)** 標本となる蛍光画像では、刺激されていないヒト末梢血単核細胞 (PBMC)、またはホルボーリミリスチン酸アセテート (PMA) とイオノマイシンで4時間刺激されたPBMCのホルマリン固定パラフィン包埋プレパラートにおいて、DAPI (全細胞が 青チャンネル)、ユビキチンC (UBC) メッセンジャーRNA (mRNA) (黄色チャンネル)、インターフェロンガンマ (IFN- $\gamma$ ) mRNA (緑色チャンネル)、PD-L1 mRNA (赤色チャンネル) の発現が確認できます。Bar=300 $\mu$ m。

さまざまなデジタル画像技術が生まれ、その多くは有望な結果を残し、免疫組織化学がこれからもさらに発展していくと言えます。

## 参考文献

- Aeffner F, Zarella MD, Buchbinder N, et al. Introduction to digital image analysis in whole-slide imaging: a white paper from the Digital Pathology Association. *J Pathol Inform.* 2019;10(1):9.
- Althammer S, Tan TH, Spitzmuller A, et al. Automated image analysis of NSCLC biopsies to predict response to anti-PD-L1 therapy. *J Immunother Cancer.* 2019;7(1):121.
- Angelo M, Bendall SC, Finck R, et al. Multiplexed ion beam imaging of human breast tumors. *Nat Med.* 2014;20(4):436-442.
- Bera K, Schalper KA, Rimm DL, et al. Artificial intelligence in digital pathology—new tools for diagnosis and precision oncology. *Nat Rev Clin Oncol.* 2019;16(11):703-715.
- Brigati DJ, Budgeon LR, Unger ER, et al. Immunocytochemistry is automated: development of a robotic workstation based upon the capillary action principle. *J Histotechnol.* 1988;11(3):165-183.
- Carvajal-Hausdorf DE, Schalper KA, Neumeister VM, et al. Quantitative measurement of cancer tissue biomarkers in the lab and in the clinic. *Lab Invest.* 2015;95(4):385-396.

- De Wiest B, van Hecke D. IHC stainer platforms: overview, pros and cons. NordiQC database. 2017. Accessed January 31, 2020. <https://www.nordiqc.org/downloads/documents/81.pdf>
- Esteva A, Robicquet A, Ramsundar B, et al. A guide to deep learning in healthcare. *Nat Med*. 2019;25(1):24-29.
- Evans AJ, Bauer TW, Bui MM, et al. US Food and Drug Administration approval of whole slide imaging for primary diagnosis: a key milestone is reached and new questions are raised. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(11):1383-1387.
- Garcia-Rojo M, De Mena D, Muriel Cueto P, et al. New European Union regulations related to whole slide image scanners and image analysis software. *J Pathol Inform*. 2019;10:2.
- Giesen C, Wang HA, Schapiro D, et al. Highly multiplexed imaging of tumor tissues with subcellular resolution by mass cytometry. *Nat Methods*. 2014;11(4):417-422.
- Jain D, Nabirajan A, Borczuk A, et al. Immunocytochemistry for predictive biomarker testing in lung cancer cytology. *Cancer Cytopathol*. 2019;127(5):325-339.
- Kapil A, Meier A, Zuraw A, et al. Deep semi supervised generative learning for automated tumor proportion scoring on NSCLC tissue needle biopsies. *Sci Rep*. 2018;8(1):17343.
- Lantuejoul S, Sound-Tsao M, Cooper WA, et al. PD-L1 testing for lung cancer in 2019: perspective from the IASLC pathology committee. *J Thorac Oncol*. 2019;S1556-0864(19)33847-X.
- Lindeman NI, Cagel PT, Aisner DL, et al. Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(3):321-346.
- Liu Y, Pantanowitz L. Digital pathology: review of current opportunities and challenges for oral pathologists. *J Oral Pathol Med*. 2019;48(4):263-269.
- Myers J. A review of automated slide stainers for immunohistochemistry and in situ hybridization. *Med Lab Obs*. 2008;40(1):41-44.
- Nakane PK, Pierce GB Jr. Enzyme-labeled antibodies for the light and electron microscopic localization of tissue antigens. *J Cell Biol*. 1967;33(2):307-318.
- Nakane PK, Pierce GB Jr. Enzyme-labeled antibodies: preparation and application for the localization of antigens. *J Histochem Cytochem*. 1966;14(12):929-931.
- Nitta H, Tsuta K, Yoshida A, et al. New methods for ALK status diagnosis in non-small-cell lung cancer: an improved ALK immunohistochemical assay and a new, brightfield, dual ALK IHC-in situ hybridization assay. *J Thorac Oncol*. 2013;8(8):1019-1031.
- Pantanowitz L, Sinard JH, Hendricks WH, et al. Validating whole slide imaging for diagnostic purposes in pathology: guideline from the College of American Pathologists Pathology and Laboratory Quality Center. *Arch Pathol Lab Med*. 2013;137(12):1710-1712.
- Prichard JW. Overview of automated immunohistochemistry. *Arch Pathol Lab Med*. 2014;138(12):1578-1582.
- Ramos-Vara JA. Principles and methods of immunohistochemistry. *Methods Mol Biol*. 2017;1641:115-128.
- Sanmamed MF, Perez-Gracia JL, Schalper KA, et al. Changes in serum interleukin-8 (IL-8) levels reflect and predict response to anti-PD-1 treatment in melanoma and non-small-cell lung cancer patients. *Ann Oncol*. 2017;28(8):1988-1995.
- Schalper KA, Brown J, Carvajal-Hausdorf D, et al. Objective measurement and clinical significance of TILs in non-small cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2015;107(3):dju435.
- Sha L, Osinski BL, Ho IY, et al. Multi-field-of-view deep learning model predicts nonsmall cell lung cancer programmed death-ligand 1 status from whole-slide hematoxylin and eosin images. *J Pathol Inform*. 2019;10:24.
- Taylor CR, Jadhav AP, Gholap A, et al. A multi-institutional study to evaluate automated whole slide scoring of immunohistochemistry for assessment of programmed death ligand 1 (PD-L1) expression in non-small cell lung cancer. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2019;27(4):263-269.
- Tsao MS, Hirsch FR, Yatabe Y, eds. *IASLC Atlas of ALK and ROS1 Testing in Lung Cancer*. 2nd ed. IASLC; 2016.
- Velcheti V, Schalper KA, Carvajal DE, et al. Programmed death ligand-1 expression in non-small cell lung cancer. *Lab Invest*. 2014;94(1):107-116.
- Widmaier M, Wiestler T, Walker J, et al. Comparison of continuous measures across diagnostic PD-L1 assays in non-small cell lung cancer using automated image analysis. *Mod Pathol*. 2020;33(3):380-390.
- Wolff AC, Hammond MEH, Allison KH, 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. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(11):1364-1382.
- Zhao C, Wu T, Ding X, et al. International telepathology consultation: three years of experience between the University of Pittsburgh Medical Center and KingMed Diagnostics in China. *J Pathol Inform*. 2015;6:63.

## 少量検体における免疫組織化学

執筆者：Lynette M. Sholl, Claudia Poleri

### はじめに

原発性肺癌の70%が、小生検や細胞診検体で診断や病期分類が行われるようになると言われてしています。肺における腫瘍組織の採取に対する技術的なアプローチには、経胸腔穿刺生検/穿刺吸引(FNA: fine-needle aspiration)、内気管支または経気管支生検/FNA、胸膜流体吸引などがあります(2012年Ofiara氏他)。細胞学的検体特有の原理については、第12章で詳しく説明します。先述の小生検とは低侵襲的処置に由来し、これにより、外科的生検に比べ患者への不快感やリスクが低減されます。しかし、小生検では、最適な診断やDNA下流のバイオマーカー検査において起こり得る問題がいくつか出てきます。まず、これらの検体が小さいと、評価可能な腫瘍細胞の数や、下流DNAの分子検査での核酸量が不足する問題が生まれます。2つ目として、肺原発部位の生検は、正常肺実質、気管支上皮、胸膜組織などの良性細胞により大幅に純度が落ちる可能性があり、診断と分子検査の感度の両方に影響を及ぼします。3つ目として、小生検では、組織の採取で用いられる手順によっては、挫滅や組織の歪みが生じることがよくあります。最後に、これらの検体は腫瘍全体のごく一部分となり、不均質性がある腫瘍においては、その程度を把握することができません。この章では、診断および治療予測における免疫組織化学(IHC: immunohistochemistry)の役割と、このツールの最適化に向けた提案に重点を置いて、小生検の処理へのアプローチに注目します。

### IHCはすべての小生検で実施すべきか？

進行期の非小細胞癌(NSCC: non-small cell carcinoma)患者を選び、標的治療を行うには、分子プロファイリングが不可欠です。そのため、病理医は可能な限り正確かつ具体的な診断を行いながら、バイオマーカー検査用に腫瘍組織を保存する必要性も認識しておかなければなりません。2011年に最初に提案された診断手法により、現在の命名法の基礎が形成され(2011年、2013年、2015年Travis氏他)、NSCCが疑われる患者に対するIHC実施の妥当性が強調されています(図5-1)。

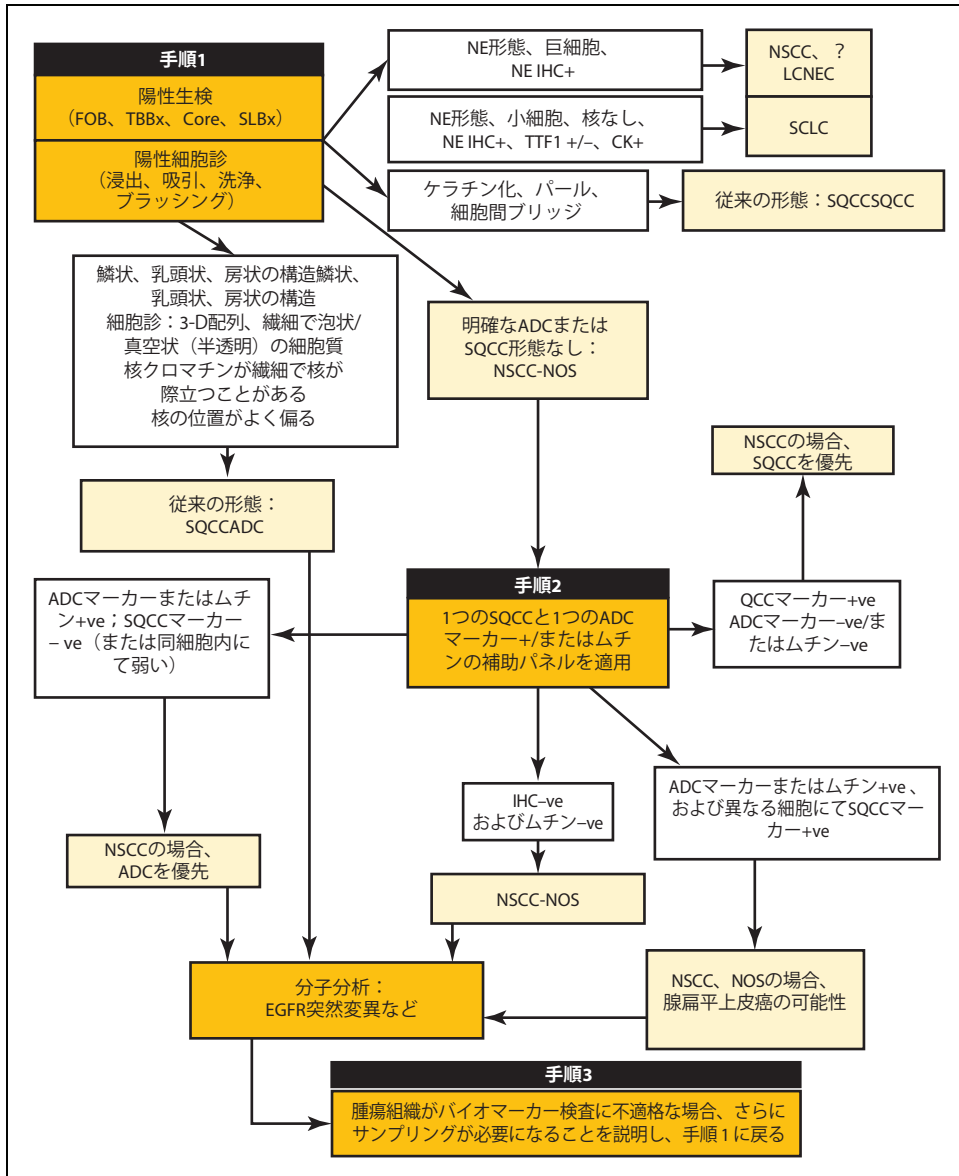


図5-1肺癌の小生検または細胞診サンプルの精密検査用アルゴリズム。典型的な形態の腺癌や扁平上皮癌のサンプルの場合は、免疫組織化学(IHC)を実施する必要はありません。神経内分泌の形態が存在する場合、腫瘍は標準的な基準に従って分類することができます。IHCは、明らかな腺癌、扁平上皮、または神経内分泌(NE: neuroendocrine)の形態がない場合に実施する必要があります。ADC=腺癌、CK=サイトケラチン、EGFR=上皮成長因子受容体、FOB=フレキシブルファイバー気管支鏡検査、LCNEC=大細胞神経内分泌癌、NOS=特定不能、NSCC=非小細胞癌、SCLC=小細胞肺癌、SLBx=外科肺生検、SQCC=扁平上皮癌、TBBx=経気管支生検、TTF1=甲状腺転写因子-1 (出典: 2011年Travis氏他)

### まとめの回答

簡単に言うと、初期診断のアプローチは、病理医の形態学的所見により進める必要があります。生検で扁平上皮癌(ケラチン化など)や腺癌(腺形成など)の形態的分化が明確に確認できる場合は、病理医はそれに応じて診断を実施することが推奨され、確認のためのIHC実施は義務付けられていません。これは当然のことながら、臨床状況によ



り原発性肺癌の診断が裏付けられていて、必要に応じて、他の症例（転移性疾患、中皮腫）の可能性も考慮されていることを前提としています。

### NSCCの分類では、どのような場合にIHCを実施するべきでしょうか？

低分化癌（腺癌や扁平上皮癌の形態学的エビデンスがない）の生検では、信頼性の高い形態学的診断を実施することが困難な場合があります（腺癌や扁平上皮癌の形態学エビデンスがありません）。この状況では、少なくとも小細胞癌が形態学的に除外されていると仮定すると、病理医には、NSCCである特定不能（NOS: not otherwise specified）の診断が残されることとなります。この時点でIHCを実施して、組織が腺癌や扁平上皮癌（またはその他でも）を発現する可能性があるかどうか明らかにする必要があります。このときにIHCを実施すると、NSCC-NOS診断の頻度が大幅に低減されます（2010年Loo氏他、2010年Nicholson氏他、2011年Mukhopadhyay氏、Katzenstein氏、2014年Zhao氏他）。さらに治療医は、治療の選択や予測バイオマーカー検査の依頼に自信を持って対応することができるようになります。

#### まとめの回答

IHCは、低分化癌（多くの場合が充実性増殖パターン）で実施する必要があります。このパターンは、腺癌および非ケラチン化扁平上皮癌で見られます。

### NSCCを分類する最初のマーカーとして最適なものはどれですか？

特定の抗体やクローンを選択する根拠については、この図説の他の箇所でも詳しく説明しています。簡単に言うと、NSCC診断に最適とされる最初のIHCパネルには、甲状腺転写因子-1（TTF1: thyroid transcription factor-1）とp40のみが含まれています（2013年Travis氏他、2019年Yatabe氏他）。陽性度に基づくこれらの染色の解釈については、[表5-1](#)で説明しています。IHCにより特徴がさらに明確になった形態的に未分化の腫瘍例は [図5-2](#) および [5-3](#)にてご覧ください。

#### まとめの回答

p40と TTF1の組み合わせは、NSCCを腺癌と扁平上皮癌に区分するのに最適な感度と特異性を備えています。

### NSCCの分類に役立つ他の腫瘍マーカーとは？

ナプシンAは、腺癌の同定において比較的TTF1に匹敵します（2016年Tran氏他）。さらに、細胞質マーカーとして p40の核染色と複合化できるため、IHC分析に必要なスライ

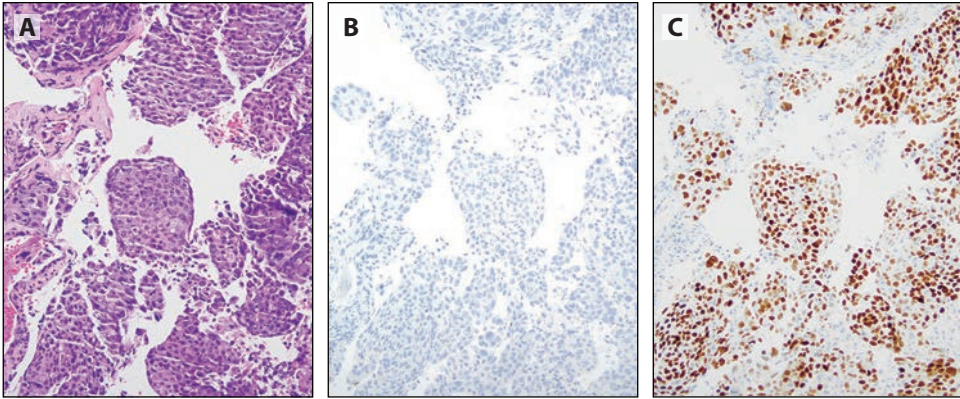
**表5-1**少量生検または細胞診検体の非小細胞癌（NSCC）診断に関する初期診断免疫組織化学パネル

TTF1	p40	診断	コメント
+A <sup>a</sup> から+++	—または+	NSCCの場合、腺癌を優先	同細胞群の染色の場合
—	50%未満の場合+	NSCCの場合、扁平上皮癌を優先	
—	10%～50%の場合+	NSCC, NOS	
+A <sup>a</sup> から++	任意の範囲	NSCC, NOSの場合、腺扁平上皮癌の可能性	異なる細胞群の染色の場合

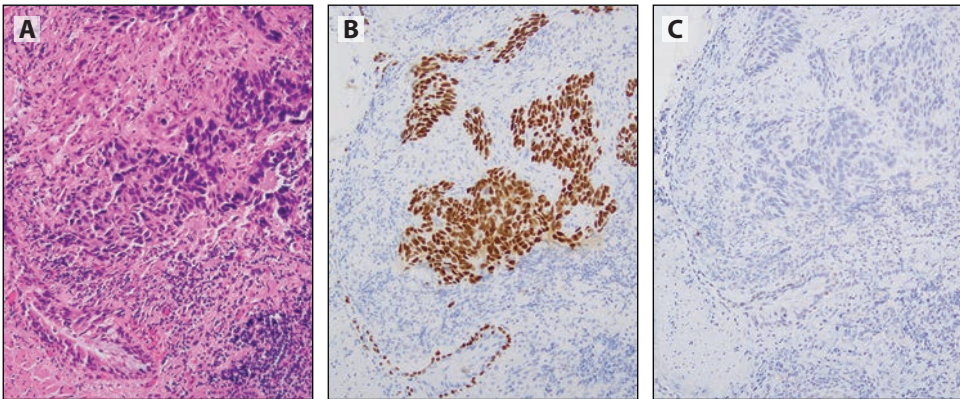
略語：NOS=特定不能、TTF1=甲状腺転写因子-1。

<sup>a</sup> 限局的な腫瘍細胞の染色。





**図5-2**非小細胞癌(NSCC)の場合、腺癌を優先。(A) 日々のH&Eセクションにおいては、充実性増殖パターンが認められるが、腺、扁平上皮、神経内分泌分化の形態的な根拠が認められない低分化癌に注意します。癌細胞は、p40では(B)陰性となり、(C)甲状腺転写因子-1(TTF1)では拡散陽性になります。



**図5-3**非小細胞癌(NSCC)の場合、扁平上皮癌を優先。(A) 日々のH&Eセクションにおいては、充実性増殖パターンや、広範囲にわたる壊死が認められる低分化癌に注意します。癌細胞は、p40では(B)拡散陽性となり、(C)甲状腺転写因子-1(TTF1)では陰性になります。

ドは1枚で済みます(2016年Nishino氏他)。しかし、ナプシンA染色の解釈に問題があるため、一次的な使用には一般的に推奨されません(2019年Yatabe氏他)。TTF1やp40の染色が有用でない、または不確実である場合、ナプシンA、サイトケラチン5/6(CK5/6: cytokeratin 5/6)など、次の選択肢となる少量のIHCマーカーのパネルが、場合によっては診断に役立つことがあります(2015年Travis氏他)。サイトケラチン7は、腺癌や肺扁平上皮癌の同定に不向きです。この目的にはお勧めできません(2019年Yatabe氏他)。腺癌の診断が除外できないので、NSCC-NOSにおいては分子検査を考慮する必要があります。パンケラチン染色は、NSCC-NOSの0型に追加する必要があります。これはTTF1やp40の染色がない、NSCC-NOS、null型に追加する必要があります。

### まとめの回答

ナプシンAおよびCK5/6は、一部のNSCC-NOSで分類を改善することができます。低分化癌が、TTF1、p40、CK5/6、ナプシンAで陰性の場合、パンケラチンを追加する必要があります。

## 神経内分泌腫瘍に最良のマーカーとは？

神経内分泌腫瘍の中でも、特にカルチノイドファミリー腫瘍や小細胞癌は中枢気道から発現ことが多く、内気管支または経気管支生検のアプローチが適しています。腫瘍細胞は繊細なため、サンプリング中に挫滅が加わりがちです。さらに、小細胞癌、カルチノイド、良性組織（リンパ組織など）、その他の小円形青色細胞腫瘍（類基底扁平上皮癌、リンパ腫、肉腫）の形態は、大幅に重複することがあります。こうした差異を示す際に、診断の信頼性を高めるうえで、IHCが結果的にきわめて重要になることがよくあります。関連するマーカーの詳細については、この図説の後半で詳しく説明します。ここでは、基本的な考慮事項についていくつか説明します。

細胞がリンパ球に類似していて、気管支関連リンパ組織（BALT: bronchial-associated lymphoid tissue）が疑われる場合、白血球共通抗原のみで染色すればこの診断を確定することができます（[図5-4](#)）。BALTは成人肺に共通し、気道分岐点でよく見られます（2005年Churg氏他）。

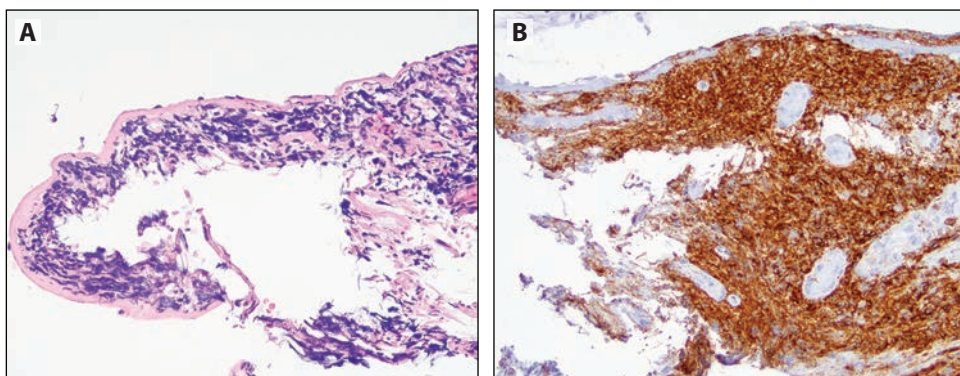
ケラチン染色により、上皮性腫瘍の診断を確定することができます。ただし、小細胞癌では陰性になることはほとんどありませんが、陽性の場合でも非常に限局的です。シナプトフィジン、クロモグラニン、CD56、インスリノーマ関連タンパク質1（INSM1: insulinoma-associated protein 1）などの神経内分泌マーカーの染色は、神経内分泌分化の確認に使用できますが、10%以下の症例で陰性となります（2015年Travis氏他）（[図5-5](#)）。

カルチノイド腫瘍には、小細胞癌特有の悪性の特徴（異型、頻繁な有糸分裂、シート状壊死）がありません。サンプルが限られている場合や保存状態が悪い場合、Ki-67のIHCにより、カルチノイド腫瘍の増殖率が低いことや、小細胞癌の増殖率が非常に高いことを裏付けることができます（神経内分泌マーカーについては第10章を参照）。

他の原発性肺癌との差異においては、小細胞癌が形態的に類基底扁平上皮癌に類似している場合があります。これについては、p40の陽性発現により診断を裏付けることができます。

## まとめの回答

神経内分泌表現型を確認するには、神経内分泌マーカー（クロモグラニン、シナプトフィジン、CD56、INSM1）のパネルを追加する必要があります。さらに、増殖マーカー



**図5-4 (A)** 日々のH&Eにて破碎したり剥離したりした少量の気管支生検で、青色細胞の保存状態がよくありません。**(B)** 白血球共通抗原（LCA）の拡散染色 -CD45により、気管支関連リンパ組織（BALT）の形態的な所見が確認されます。



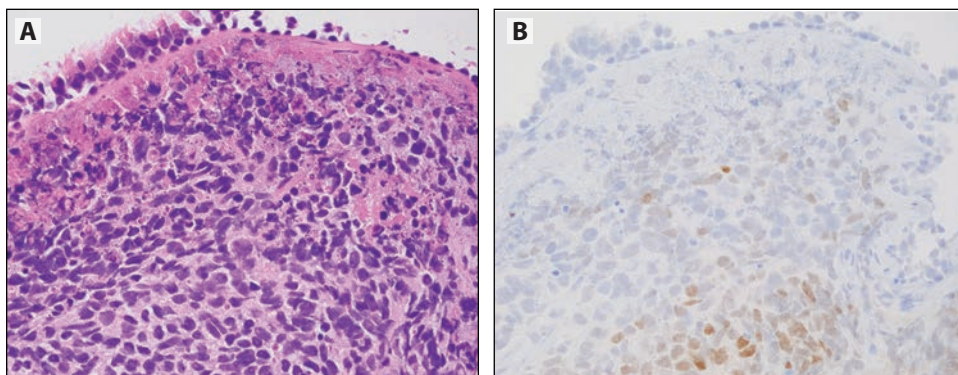


図5-5 (A) H&Eでの小細胞癌を含む気管支内生検 (B) インスリノーマ関連タンパク質1 (INSM1)における多病巣性の陽性核染色。

は、小生検に著しい挫滅がある場合に有用です。パンケラチンマーカを含めることにより、神経内分泌腫瘍とリンパ腫を区別することが可能になります。p40を含めることにより、類基底扁平上皮癌を悪性度の高い神経内分泌癌と見誤ることを防ぐことが可能になります。

### 小生検で困難な診断シナリオとは？

細胞の保存不良、挫滅、歪みなど、小生検におけるアーチファクトにより、腫瘍細胞の形態学的特徴が見えなくなり、良性構造の解釈を誤ってしまう可能性があります。シナリオによっては、良性または悪性の細胞群をハイライトするのにIHCが役立つことがあります。しかし、病理医は形態学的な手がかりと状況だけに頼らなければなりません。保存状態の悪い粘膜下腺や反応性内皮と、気管支内生検の浸潤性腺癌を区別することは困難です。TTF1染色にて浸潤性腺癌はハイライトされますが、特異性の高いクローン(8G7G3/1)を使用すると、良性の気管壁の成分では陰性になります(図5-6)。

逆に病理医は、紛らわしく隣接する TTF1陽性の反応性肺細胞を、腺癌の診断する指標として拡大解釈するべきではありません(図5-7)。一連のセクションで、ヘマトキシリン・エオジン(H&E)染色を慎重に相互参照することで、免疫反応において適切な母集団が評価されるようにします。

### まとめの回答

生検のアーチファクトによる免疫組織化学染色の誤解釈を防ぐためには、組織的な染色と免疫組織化学的な染色を注意深く相関させることが必要です。

### 予測バイオマーカー検査結果を最適化するには、生検検体をどのように処理すべきか？

分子検査の精度は、検査用に用意される検体の質により大きく左右されます。たとえば、サンプルの品質(タンパク質や核酸の保存状態や量など)は、腫瘍特有の特性(サイズ、浸潤性、炎症性浸潤の程度、腫瘍壊死など)や、生検室や病理検査室でのサンプル処理などの管理された環境要素のいずれにも左右されます。分析前の重要な環境要素については、この図説にて他の箇所でも詳しく説明しています。生検は、繊細な性質により特有性があり、サンプルの乾燥や劣化を防ぐために迅速な固定が必要です。

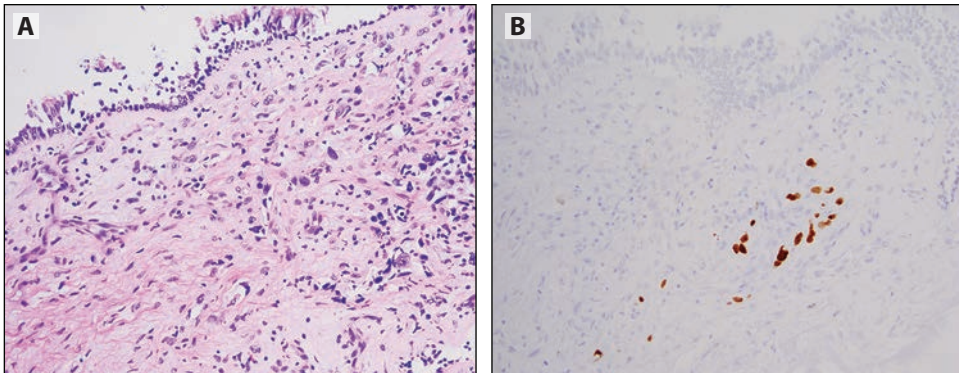


図5-6 (A) 慢性炎症を伴う稀有な異型性細胞を有する気管壁。(B) 甲状腺転写因子-1 (TTF1) 染色により浸潤性の腫瘍細胞がハイライトされます。

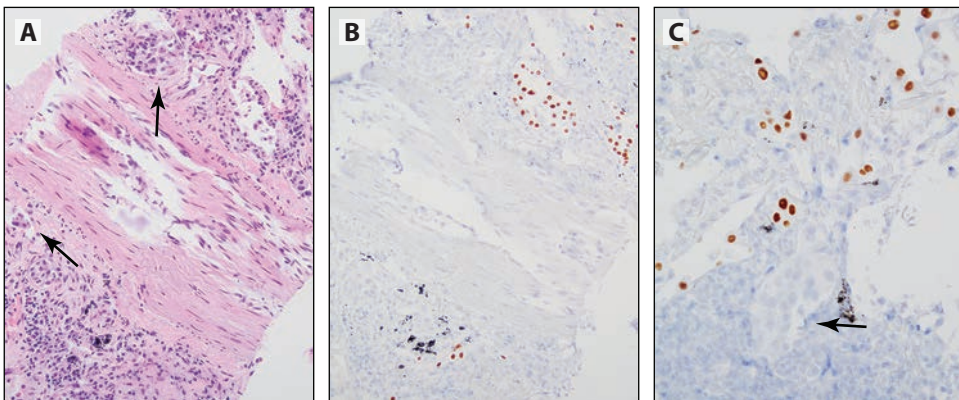
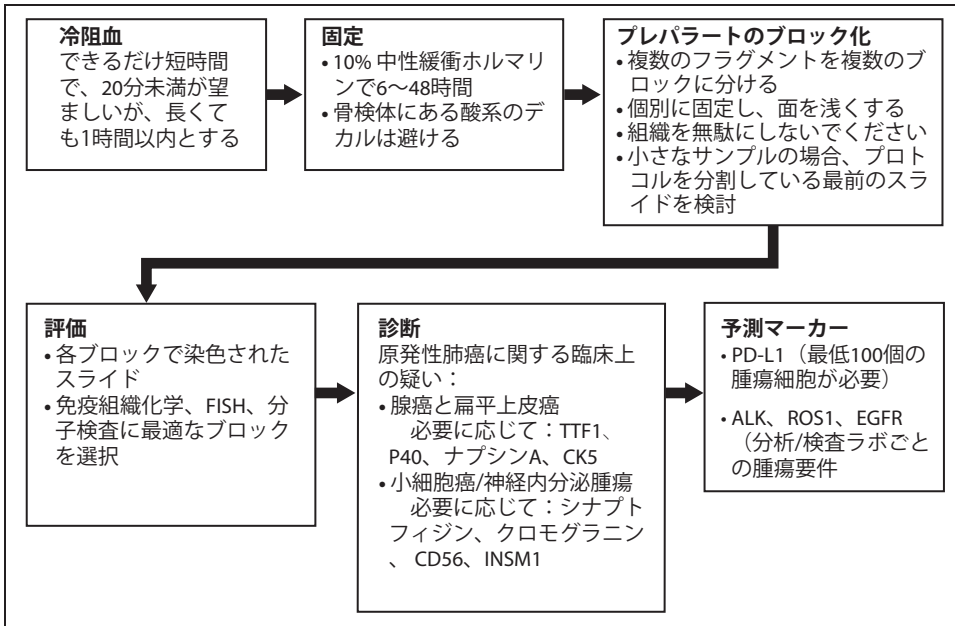


図5-7 (A) 特定不能の非小細胞肺癌は、リンパ管(矢印)で広範囲に存在します。(B) 隣接する反応性肺細胞は、甲状腺転写因子-1(TTF1)染色によりハイライトされます。(C) リンパ管(矢印)の陰性細胞に注意してください(パネルAは ×400倍率で最も見やすくなっています)。パンセラチンでハイライトされた腫瘍細胞に染色を施します(図はありません)。

骨生検では、組織学の研究室で日常のスライド処理を行う前に、酸またはキレート溶液にて脱灰手順がよく必要になります。酸性溶液(塩酸、ギ酸)は、タンパク質と核酸を分解し、IHC、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR: polymerase chain reaction)、シーケンシングベースの分子検査による反応を著しく阻害する可能性があります(2013年Lindeman氏他、2017年Maclary氏他)。エチレンジアミン四酢酸(EDTA: ethylenediaminetetraacetic acid)などのキレート溶液は、タンパク質の抗原性と核酸の完全性の維持を改善し、IHCや分子研究への影響も軽微で、小生検の脱灰においては比較的效果があります(2016年Schrijver氏他)。

プログラム細胞死リガンド-1 (PD-L1: programmed death ligand-1)のIHC、未分化リンパ腫キナーゼ(ALK: anaplastic lymphoma kinase)、C-Ros癌遺伝子1 (ROS1: c-ros oncogene 1)の蛍光in situ/ハイブリダイゼーション(FISH: fluorescence in situ hybridization)またはIHC、さらに、上皮成長因子受容体(EGFR: epidermal growth factor receptor)やB-RAFプロトオンコジーン (*BRAF*)における配列変異や他の有効な治療の対象範囲に関する分子プロファイリングなど、病理医が予測マーカー検査において潜在的な可能性を考慮することは、非小細胞癌を疑い精密検査を実施するうえで最も重要なことです。(2018年Lindeman氏他)。したがって、診断IHC実施の妥当なきわめて重要



**図5-8**小生検プレパラートにおいて推奨される研究室処理の概要。ALK=未分化リンパ腫キナーゼ、CK5=サイトケラチン5、EGFR=上皮成長因子受容体、FISH=蛍光in situハイブリダイゼーション、INSM1=インスリノーマ関連タンパク質1、PD-L1=プログラム細胞死リガンド-1、ROS1=C-Ros癌遺伝子1 タンパク質、TTF1=甲状腺転写因子-1。

なことなのです。大量かつ多様な臨床検査を必要とする少量検体を管理するために、研究室のワークフローを調整していく必要があります(図5-8)。

一部の研究室では、「分子優先」の生検プロトコルの確立が提唱されています(2016年Aisner氏他)。このプロトコルは、組織学研究室で行う処理のサンプルに対し、個体における生検切片の個々の埋め込みや表面処理を含める標識付けをし、事前のスライドカットのプロトコルで、十分に染色されていないスライドが、診断および予測IHCや、分子または細胞遺伝検査で利用できるようにします。新しいコア生検で作られるタッチインプリントやスメアは、分子分析にも使用できます(2019年Roh氏)。このアプローチは時間と労力を要するため、病理学研究室は臨床医と協力してこれらの生検を収集し、検体の受領時に遺伝子検査の適応と潜在的なニーズを明確にすることが不可欠です。

予測バイオマーカー検査の最小要件は、問題となっている対象や分析により異なります。PD-L1 pharmDx IHC検査のコンパニオン診断標識には、腫瘍細胞が最低100個必要です。検体が有する腫瘍細胞が100個未満の場合、PD-L1腫瘍比スコアが過小評価されてしまう可能性があります(2019年Gagne氏他)。ALK FISH検査(Abbott/Vysis)では腫瘍核が50個必要です。ただし、ALK IHCでは、腫瘍核の必要最低個数はありません。ROS1 IHCでも同様です。ROS1 IHCは、ROS1融合検出のスクリーニング手段として使用できます。DNAやRNAベースの次世代シーケンシング分析などの分子法は、良性細胞が多く混入した少量サンプルでも、融合事象を検出できるようになりつつあります。RNAベースの融合検出(ALK、ROS1、retプロトオンコジーン[RET]、神経栄養因子受容体チロシンキナーゼ[NTRK 1-3]など)は、発現した写しの検出に最適化されているため、限られたサンプルにおいて特に強力なツールとなります。この写



しは腫瘍細胞の非常に高いレベルで存在する場合があるため、準最適な検体でも検出可能です(2018年Davies氏他、2019年Benayed氏他)。

## まとめの回答

患者の管理においては、小生検が重要な役割を果たします。そのため、各検査室で組織の活用に関する詳細なプロトコルを確立して、予測マーカーを決定する必要があります。効果的なワークフローを確立するには、各バイオマーカーの限界、落とし穴、要件を認識することが最も重要です。

## 結論

免疫組織化学染色は、特に手順上のアーチファクトやサンプリングが問題となる生検検体において、低分化癌を分類できる強力なツールとなります。

病理医は、予測マーカーの分類や判断に推奨されるパネルやアルゴリズムを適用し、小生検材料の利用価値を高めて、正確な診断と予測バイオマーカーの同定を実現する必要があります。

## 参考文献

- Aisner DL, Rumery MD, Merrick DT, et al. Do more with less: tips and techniques for maximizing small biopsy and cytology specimens for molecular and ancillary testing: the University of Colorado experience. *Arch Pathol Lab Med.* 2016;140(11):1206-1220.
- Benayed R, Offin M, Mullaney K, et al. High yield of RNA sequencing for targetable kinase fusions in lung adenocarcinomas with no mitogenic driver alteration detected by DNA sequencing and low tumor mutation burden. *Clin Cancer Res.* 2019;25(15):4712-4722.
- Churg AM, Myers JL, Tazelaar HD, et al. *Thurlbeck's Pathology of the Lung*. 3rd ed. Thieme; 2005.
- Davies KD, Le AT, Sheren J, et al. Comparison of molecular testing modalities for detection of ROS1 rearrangements in a cohort of positive patient samples. *J Thorac Oncol.* 2018;13(10):1474-1482.
- Gagne A, Wang E, Bastien N, et al. Impact of specimen characteristics on PD-L1 testing in non-small cell lung cancer: validation of the IASLC PD-L1 testing recommendations. *J Thorac Oncol.* 2019;14(12):2062-2070.
- Lindeman NI, Cagel PT, Aisner DL, et al. Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *Arch Pathol Lab Med.* 2018;142(3):321-346.
- Lindeman NI, Cagle PT, Beasley MB, et al. Molecular testing guideline for selection of lung cancer patients for EGFR and ALK tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology. *J Thorac Oncol.* 2013;8(7):823-859.
- Loo PS, Thomas SC, Nicolson MC, et al. Subtyping of undifferentiated non-small cell carcinomas in bronchial biopsy specimens. *J Thorac Oncol.* 2010;5(4):442-447.
- Maclary SC, Mohanty SK, Bose S, et al. Effect of hydrochloric acid decalcification on expression pattern of prognostic markers in invasive breast carcinomas. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2017;25(2):144-149.
- Mukhopadhyay S, Katzenstein AL. Subclassification of non-small cell lung carcinomas lacking morphological differentiation on biopsy specimens: utility of an immunohistochemical panel containing TTF-1, napsin A, p63, and CK5/6. *Am J Surg Pathol.* 2011;35(1):15-25.
- Nicholson AG, Gonzalez D, Shah P, et al. Refining the diagnosis and EGFR status of non-small cell lung carcinoma in biopsy and cytologic material, using a panel of mucin staining, TTF-1, cytokeratin 5/6, and P63, and EGFR mutation analysis. *J Thorac Oncol.* 2010;5(4):436-441.
- Nishino M, Hoang MP, Della Pelle P, et al. Napsin A/p40 antibody cocktail for subtyping non-small cell lung carcinoma on cytology and small biopsy specimens. *Cancer Cytopathol.* 2016;124(7):472-484.
- Ofiara LM, Navasakulpong A, Ezer N, et al. The importance of a satisfactory biopsy for the diagnosis of lung cancer in the era of personalized treatment. *Curr Oncol.* 2012;19(suppl 1):S16-23.

Roh MH. The utilization of cytologic and small biopsy samples for ancillary molecular testing. *Mod Pathol*. 2019;32(suppl 1):77-85.

Schrijver WA, van der Groep P, Hoefnagel LD, et al. Influence of decalcification procedures on immunohistochemistry and molecular pathology in breast cancer. *Mod Pathol*. 2016;29(12):1460-1470.

Tran L, Mattsson JS, Nodin B, et al. Various antibody clones of napsin A, thyroid transcription factor 1, and p40 and comparisons with cytokeratin 5 and p63 in histopathological diagnostics of non-small cell lung carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2016;24(9):648-659.

Travis WD, Brambilla E, Burke AP, et al. *WHO Classification of the Lung, Pleura, Thymus and Heart*. 4th ed. International Agency for Research on Cancer (IARC) Press; 2015.

Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al. Diagnosis of lung cancer in small biopsies and cytology: implications of the 2011 International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society classification. *Arch Pathol Lab Med*. 2013;137(5):668-684.

Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al. International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol*. 2011;6(2):244-285.

Yatabe Y, Dacic S, Borczuk AC, et al. Best practices recommendations for diagnostic immunohistochemistry in lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2019;14(3):377-407.

Zhao W, Wang H, Peng Y, et al. ΔNp63, CK5/6, TTF-1 and napsin A, a reliable panel to subtype non-small cell lung cancer in biopsy specimens. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014;7(7):4247-4253.

# 切除された主な肺癌の分類における免疫マーカー

# 6

執筆者: Sabina Berezowska, Andrew G. Nicholson, William D. Travis, Alain C. Borczuk, Ming Sound Tsao

## はじめに

形態パターンと特徴を定義しておけば、生検の約60% (2010年Nicholson氏他、2010年Loo氏他)と切除の約80%で主要な非小細胞癌(NSCC: non-small cell carcinoma)の診断が十分に行えます。腺癌の場合、構造パターンは鱗状、房状、乳頭、微小毛細血管、篩状となり、ムチン生成や印環形態などの特徴があります(2011年Travis氏他)。扁平上皮癌の場合は、細胞間ブリッジを持つケラチンおよび扁平上皮真珠の構造になります。これらの特徴に該当せず、ムチン染色が陰性の場合は、免疫組織化学的染色を行い、NSCCをさらに分類分けできるようにする必要があります。未分化の腫瘍を免疫組織化学の発現プロフィールに従い形態的に分類する構想は、2015年のWHO分類(2015年Travis氏他)にて提言されたものでした。少量生検や細胞検体においては、診断や予測マーカー検査に使用する染色数を最小限に抑えながら、分子解析(第5章で説明)用にできるだけ多くの組織を保持して、分類に必要な切除も最小限に抑える必要があります。

## 腺癌と扁平上皮癌を 区別するうえで、通常診療で使用するマーカーの最適な組み合わせとは?

切除したた非小細胞癌に神経内分泌形態がなく、形態的に未分化の場合(図6-A およびB)、腺癌と扁平上皮癌を区別するには、甲状腺転写因子-1 (TTF1: transcription factor-1、クローン 8G7G3/1)と p40 (2019年Yatabe氏他)で構成 されるパネルが最も有用で、不足が生じることはほとんどありません。転移性疾患の問題を除き、TTF1発現は、扁平上皮以外の主な癌の分類において、腫瘍を肺腺癌として特徴付けています(図6-1C および D)。TTF1は、クローンによって異なりますが、75%~80%以上で粘液非産生性の原発肺腺癌を発現する核マーカーで、クローン8G7G3/1においては、クローンSPT24に比べ特異性が高く、過敏性は低くなります(2012年Ordonez氏、2015年Kadota氏他、2014年Kashiet氏他)。限局性の TTF1 (クローン8G7G3/1)陽性の場合、腫瘍は

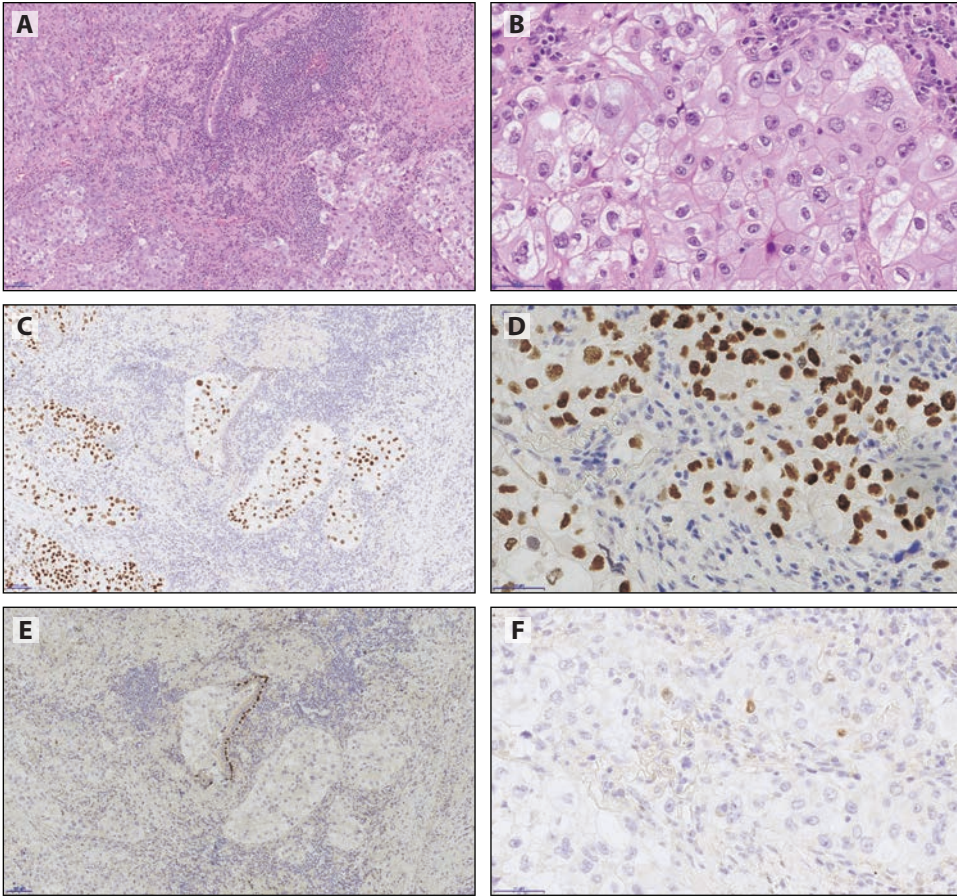


図6-1 甲状腺転写因子-1 (TTF1) および p40 を使用して、切除した肺癌の低分化癌を分類。この固形腺癌は、p40 ではなく TTF1 で染色されます。TTF1 陽性腫瘍における p40 染色の弱さは、腺扁平上皮の組織構造を示すものではありません。(A、C、E) ×10、(B、D、F) ×40、(A および B) H&E、(C および D) TTF1-8G7G3/1、(E および F) p40。

TTF1 陽性と見なされ、加えて反応性が弱い場合があります。(TTF1 については第7章で詳しく説明します) p40 (▽Np63) は扁平上皮分化の核マーカーです。p40 での限局的または弱い陽性反応は、TTF1 陽性腫瘍に見られます。これらの症例は今までどおり腺癌として分類される必要があります。

扁平上皮癌はナプシンA 陰性であることが一貫して報告されていることから、ナプシンA は、原発肺腫瘍の TTF1 陰性症例における腺癌の診断において有用なマーカーであると考えられます(2015年 Kadota 氏他、2012年 Whithaus 氏他)。ナプシンA (モノクローナル) は、粒状の細胞質パターンを示します(図6-2)。これは、タイプII 肺細胞、肺胞マクロファージ、尿細管、外分泌腺、腺管で発現します。モノクローナル抗体は高い特異性を持ち、ポリクローナル抗体を上回る優位性があります。(2012年 Mukhopadhyay 氏および Katzenstein 氏)。しかし、ほとんどの肺腺癌では TTF1 とナプシンA が共発現するため、TTF1 が陽性的の場合、使用は推奨されません。

形態的に未分化の非小細胞癌と同じ腫瘍細胞に TTF1 と p40 の共発現が認められる場合、TTF1 の陽性反応が弱くても、肺腺癌として腫瘍を分類することができます。



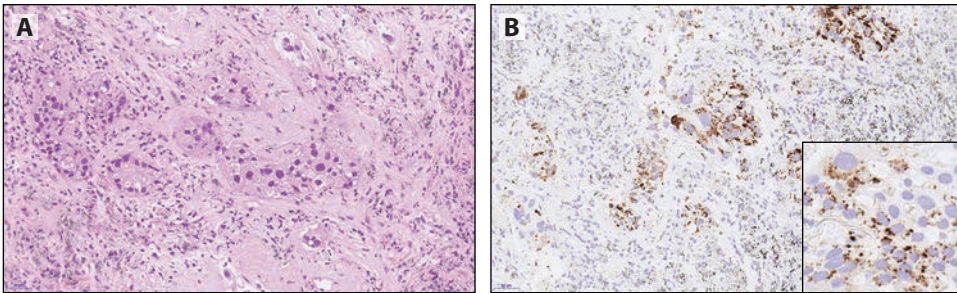


図6-2 ナブシンAは、原発性肺腫瘍での甲状腺転写因子-1 (TTF1) 陰性の症例において、腺癌の診断に有用なマーカーです。ナブシンA (モノクローナル) は、粒状の細胞質パターンを示します (x40を挿入)。x20 (A) H&Eおよび (B) ナブシンA

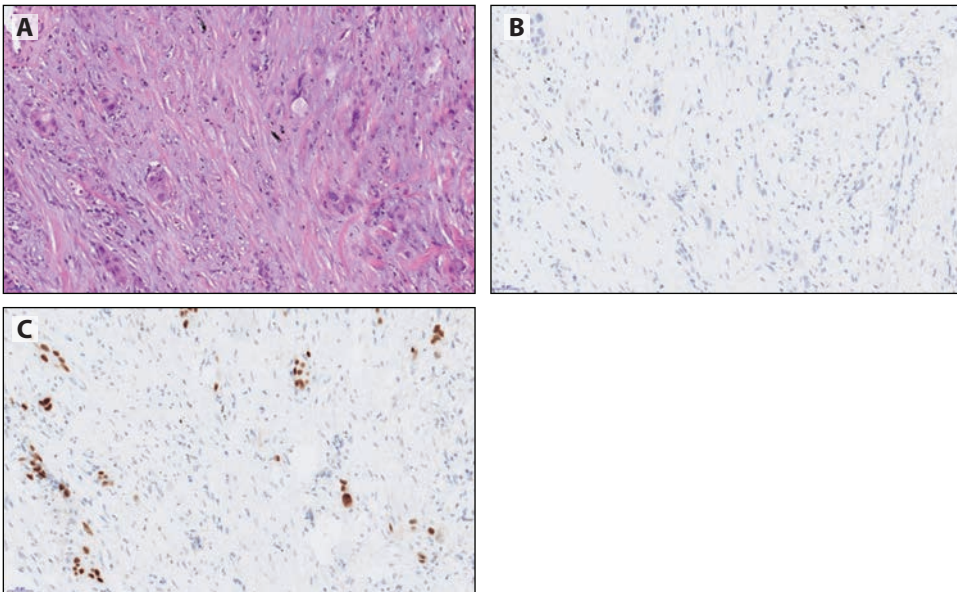


図6-3 (A) ケラチン化または (B) 甲状腺転写因子-1 (TTF1) の発現を伴わない高浸潤で形態的に未分化の腫瘍は、ここで紹介した症例のように、強力な p40陽性を示している場合、扁平上皮癌として区別することができます。X20 (A) H&E、(B) TTF1、(C)p40。

扁平上皮癌は、腫瘍細胞の50%以上で p40を強く発現し、必ずTTF1陰性になります (図 6-3)。 p63は p40と同様の過敏性を示しますが、特異性が低い (2012年Bishop氏他) ので、p40が使用可能な場合はp63を使用しないでください。また、サイトケラチン5/6 (CK5/6) も、扁平上皮分化の新たなマーカーとして使用できますが、単独で使用する場合は、腺癌と扁平上皮癌を区別できません (2011年Righi氏他、2011年Rekhtman氏他、2012年Warth氏他)。

棘融解性扁平上皮癌は、腺癌と混同されがちですが、場合によっては、上皮性血管肉腫と混同されることもあります。このような場合、TTF1とp40の組み合わせが扁平上皮癌 (図6-4) の確認において非常に有用です。両方が陰性の場合は、パネルを拡大します。

サイトケラチン7 (CK7) 陽性は、特異性が低いいため、これにより扁平上皮分化から腺癌を区別することはできません (図6-5)。CK7が肺腺癌において91~100%の陽性率を示しても、症例の5~77%においては、扁平上皮癌が強いびまん性のCK7陽性を示すこともあることが報告されています (2012年Warth氏他、2012年Mukhopadhyay氏、Katzenstein氏、2014



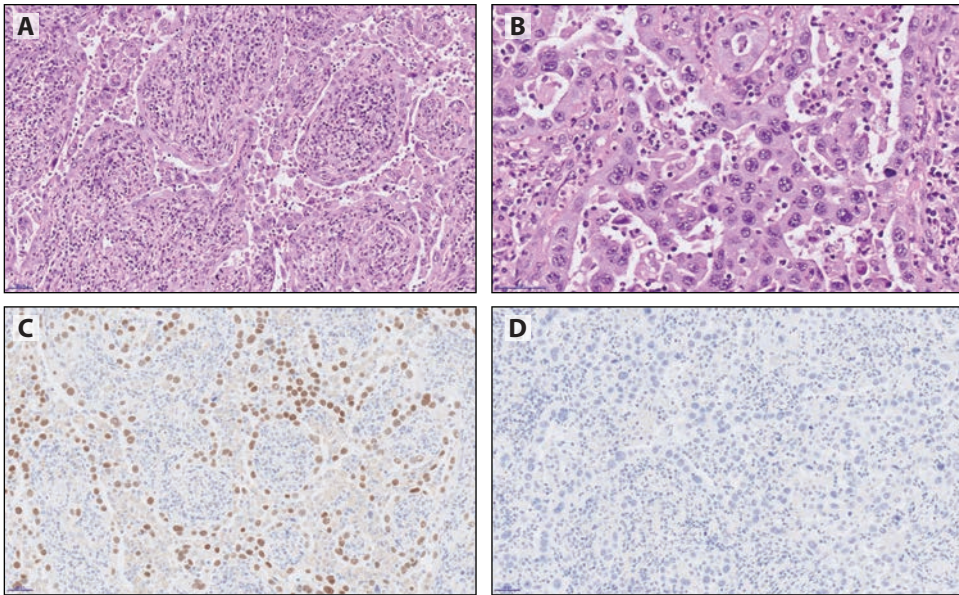


図6-4治療の結果から、不確実な症例において非小細胞癌(NSCC: non-small cell carcinoma)の細分類を検証する場合、免疫組織化学の適用の閾値を下げる必要があります。(AおよびB) 棘融解による腫瘍の成長パターンは腺癌を示していました。しかし、甲状腺転写因子1 (TTF1)に対する強力な (C) p40陽性および (D) 陰性を伴う免疫組織化学的な発現パターンにより、扁平上皮癌が確認されました。(A、C、D) x20; (B) x40; (AおよびB) H&E、(C) p40、(D) TTF1。

年Johansson氏、2012年No氏およびShim氏、2011年Righi氏他、2014年Koh氏他、2015年Gurda氏他)。サイトケラチンの使用に関する詳しい説明は、第9章をご覧ください。

扁平上皮分化を伴う原発性肺癌については、強力な p40発現やケラチン化からも明らかのように、すべてが扁平上皮癌になるわけではありません。強力なp40発現を伴う形態的に未分化の腫瘍のなかには、精巣核タンパク質 (NUT: nuclear protein in testis) 癌になることもあります(2009年Haack氏他)。ケラチン化の典型的な病巣は、切除検体(図6-6)で限局的に存在しているだけの可能性があります。(第14章を参照)。肺内胸腺腫は、びまん性のある強力な p40発現を示す場合もあります。

形態的に分化していない腫瘍において、p40が腫瘍の10%未満で限局的である場合や免疫反応が弱い場合は、扁平上皮分化と解釈することはできません。このような場合、非ケラチン化扁平上皮癌ではなく、不確実な免疫組織化学的特徴を持つ大細胞癌に分類する必要があります。

### まとめの回答

日常的には、TTF1とp40はたいていの場合、非小細胞癌を細分類することができるので、形態的特性や神経内分泌形態を定義する必要もありません。転移や希有な変異が疑われる場合には、このパネルを拡大することもできます。

### 腺扁平上皮癌の診断における免疫マーカーの役割とは？

腺扁平上皮癌の診断には、各成分が10%以上含まれている切除検体が必要です。組織学的に診断された腺癌や扁平上皮癌と同様に、扁平上皮癌と腺癌を構成する成分が形態的にはっきりしている場合、腺扁平上皮癌の症例では、2つの異なる成分におけ

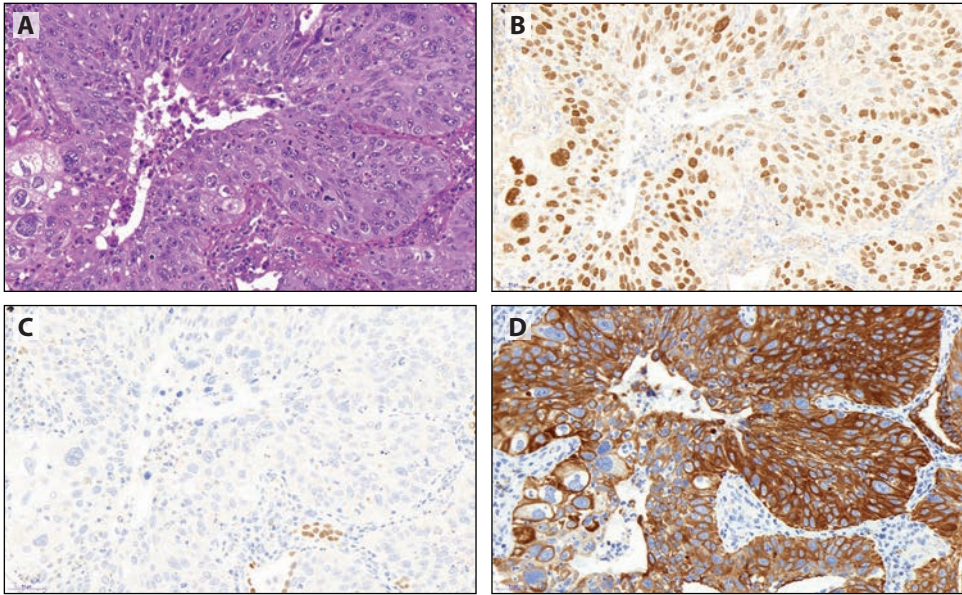


図6-5 (B) p40発現、(C) 甲状腺転写因子-1 (TTF1) 欠損、(D) 強力かつ均質なサイトケラチン7 (CK7) 発現を伴う非ケラチン化扁平上皮癌。尿路上皮癌からの転移は、新たな免疫マーカーと病歴により除外されました。(A-D) ×30; (A) H&E、(B) p40、(C) TTF1および(D) CK7。

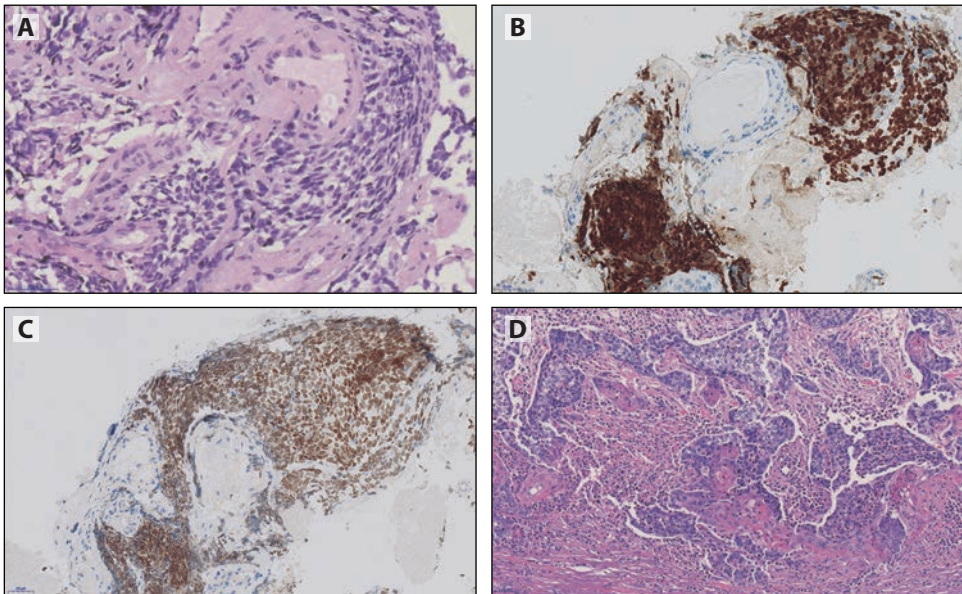


図6-6精巣核タンパク質 (NUT: Nuclear protein in testis) 癌は、NUT 遺伝子再配列の発生によって同定され、斑点の核陽性を有する NUTモノクローナル抗体で検出することができます。ケラチン化は単に限局的である可能性があります。(A) ×40; (B-D) ×20; (AおよびD) H&E、(B) p40、(C) NUT。

免疫組織化学的な確認は不要です (2015年Travis氏他)。片方または両方の成分が低分化の場合は、2つの明確化された成分を証明するうえで、診断の裏付けとして免疫



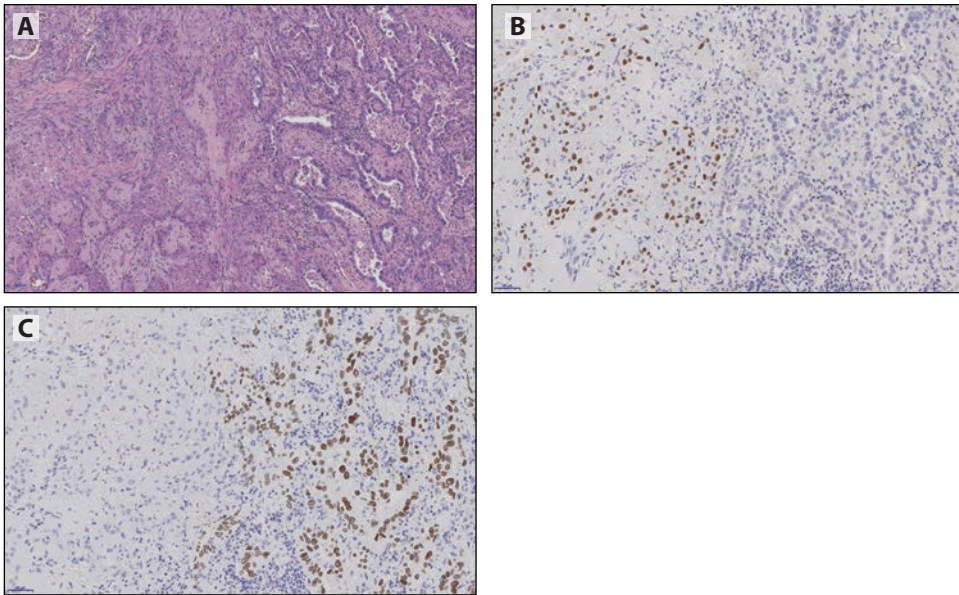


図6-72つの腫瘍成分は、左記の p40発現/甲状腺転写因子-1 (TTF1)陰性を伴う扁平上皮癌成分と、右記の p40陰性/TTF1発現を伴う腺癌成分で明確に区別されています。×20、(A) H&E、(B) p40、(C) TTF1。

組織化学が必要になります。1 TTF1および1 p40陽性(図6-7)。同じ腫瘍細胞で TTF1とp40の共発現が見られる場合は、その症例を腺癌として分類する必要があります。

### まとめの回答

TTF1およびp40の免疫組織化学は、腺扁平上皮癌の診断において2つの異なる腫瘍細胞集団をハイライトする場合に有用です。

### 肉腫様癌における免疫組織化学の有用性とは？

多形性癌の診断には、腺癌、扁平上皮癌、または大細胞癌を、紡錘細胞癌や巨細胞癌と併せて確認する必要があります(図6-8A および C)。こうした状況の場合、TTF1やp40の使用により、発癌性のある成分を明らかにすることができます。紡錘細胞癌や巨細胞癌の成分は、多くの場合、サイトケラチンのみに対して陽性となり、このことが純粋な紡錘細胞癌や巨細胞癌の分類において有用になる場合があります(図6-8B および D)。こうした腫瘍の肉腫成分では、亜鉛フィンガー-Eボックス結合タンパク質1 (ZEB1)の核免疫活性が報告されています(2014年Matsubara氏他、2019年Viswanathan氏他et)、診断での正確な役割は現在のところ不確実です(図6-8E)。腫瘍の上皮起源を確認するには、症例によっては単一ではなく、広範なサイトケラチンが必要になる場合があります。

芽細胞腫の診断では、胎児型腺癌と肉腫(一般的には悪性軟骨または骨格筋の異種成分)が必ず組み合わさっています。これはβカテニンの変異腫瘍であるため、胎児型腺癌に見られるように、βカテニンの核免疫活性が確認できます(図13-5を参照)。

癌肉腫の診断では、癌と異種の肉腫の成分が組み合わさっています。こうした状況での免疫組織化学の使用は、横紋筋腫の成分を確認するMyogeninやMYOD1など、異種成分の特性解析や確認に制限される場合があります。

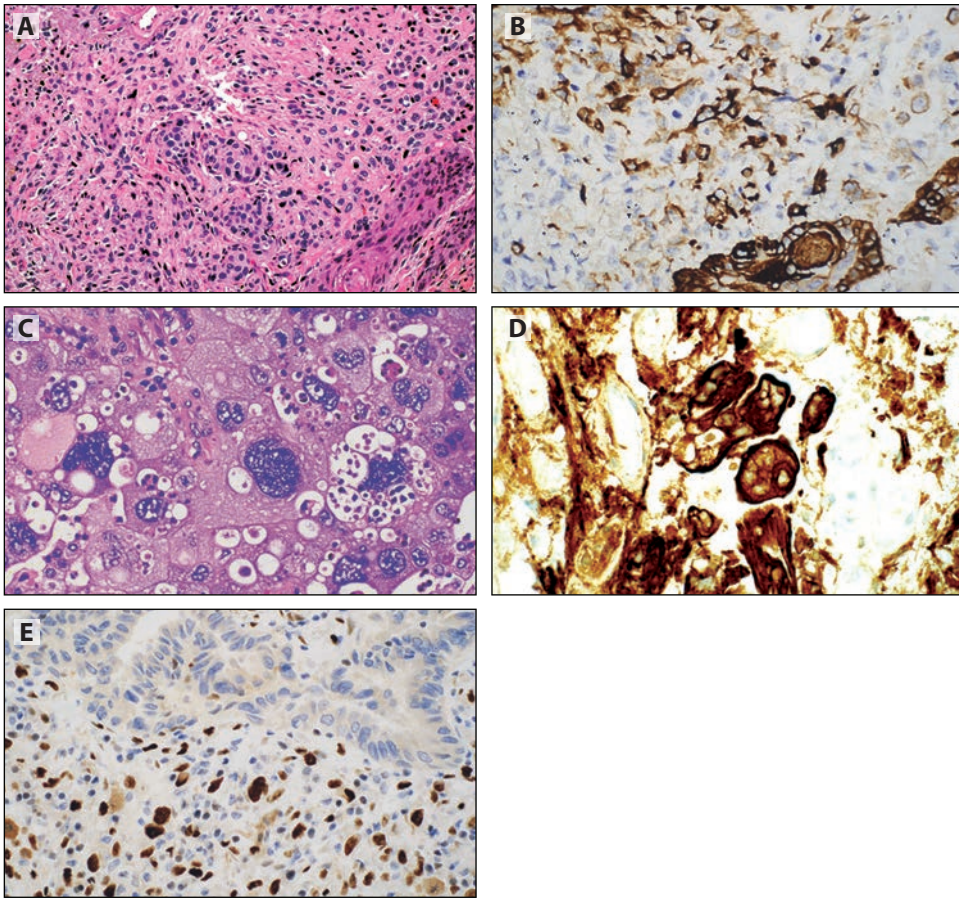


図6-8肉腫癌の免疫組織化学。(A) 多形性癌は、扁平上皮や (B) 紡錘細胞の成分にてサイトケラチン反応を示します。(C) 巨細胞癌は、(D) サイトケラチンの免疫反応により癌として確認されます。診断用途としては現在もまだ不確実ですが、ZEB1免疫組織化学では、多形性癌が持つ肉腫様の成分にて核染色が確認できます。(A、B、E) ×20; (CおよびD) ×40; (AおよびC) H&E、(BおよびD) サイトケラチン AE1/AE3、(E) ZEB1。

## まとめの回答

サイトケラチンの免疫反応は、多形性癌における悪性の紡錘細胞や巨細胞癌のパターンを裏付けるのに役立ちます。稀なサブタイプの免疫組織化学により、異種成分や、芽細胞腫における胎児型腺癌の成分が確認できます。

## 巨細胞癌の診断における免疫組織化学の役割とは？

2015年現在のWHO分類で定義されているように、巨細胞癌は、形態的 (図6-9A) または免疫組織化学的な特徴を持たない未分化の非小細胞癌であり、さらに細分類することが可能です。したがって、巨細胞癌は除外診断であるため、切除検体でのみ考察することができます。陰性の免疫染色に加えて、固形腺癌をさらに除外するために、ムチン染色は陰性である必要があります。

TTF1および p40は、巨細胞癌において必ず陰性です。TTF1では、既存の肺胞壁にある肺細胞のみをハイライトできます (図6-9B)。ナプシンAも陰性となり (図6-9C)、



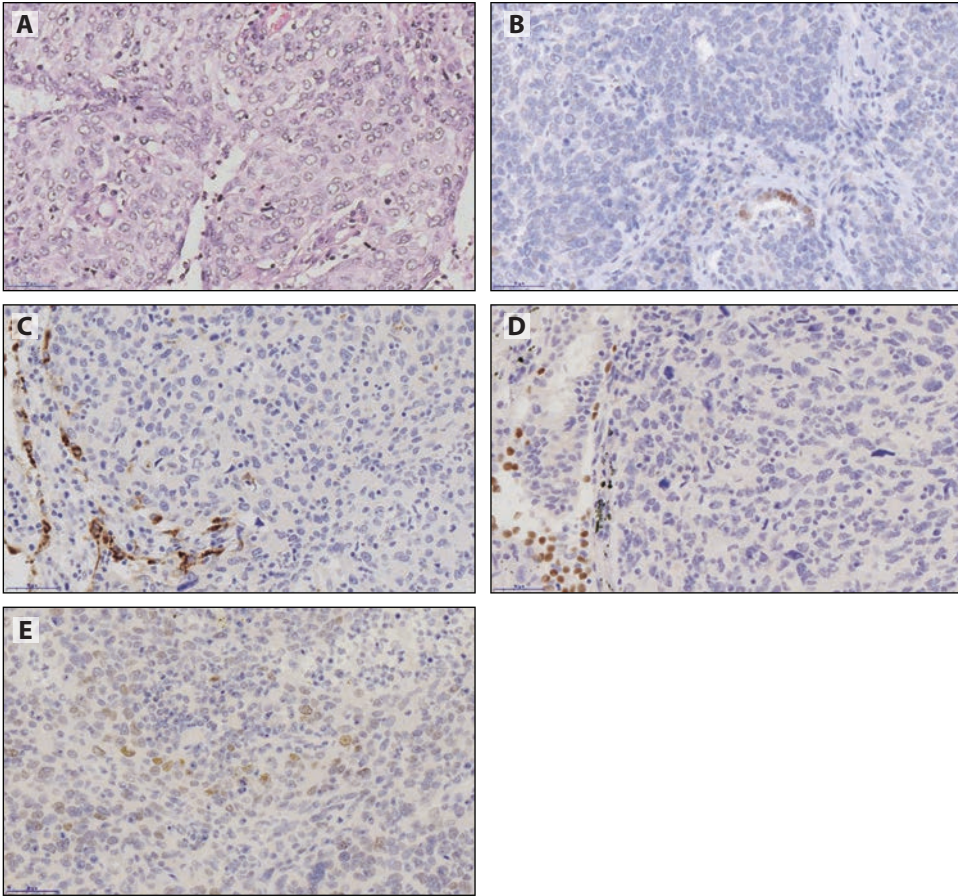


図6-9 巨細胞癌。(A) 形態的に未分化の非小細胞癌 (B) 甲状腺転写因子 -1 (TTF1) 陰性、(C) ナプシンA、(D) p40、(E) p63。x40; (A) H&E、(B) TTF1、(C) ナプシンA、(D) p40、(E) p63。

p40は気管支の基底細胞層(ある場合)のみをハイライトし、内部陽性対照として機能します(図6-9D)。微弱で限局的な p63陽性は巨細胞癌または腺癌に見られ、一般的なものです(図6-9E)。特に、腫瘍を扁平上皮癌として区分するには不十分です。

この診断には切除検体が必要なため、腫瘍スライドをすべて確認のうえで、免疫組織化学を実施するブロックを選択し、ヘマトキシリン・エオジン(H&E: hematoxylin and eosin)染色を確認のうえで、腺癌または扁平上皮癌のいずれかを示す可能性が最も高いブロックを特定する必要があります。

固形腫瘍で TTF1および p40の初回検査が陰性である場合、追加染色を実施して、腫瘍が黒色腫、リンパ腫、肉腫ではなく、癌腫(サイトケラチン染色)であることを確認する必要があります。そして、臨床状況と形態的特徴に応じて、転移を除外する検査を検討する必要があります(第16章を参照)。

また、組織学的特徴によっては、SMARCA4での染色において、特定不能(NOS: not otherwise specified) /巨細胞癌が考慮される場合があります。SMARCA4欠損の肺腺癌では、症例の80%でTTF1陰性が確認されました(2017年Agaimy氏他、2017年Herpel氏他)。ただし、これは SMARTCA4欠損の胸部腫瘍と混同しないでください(第15章を参照)。



## まとめの回答

TTF1、ナプシンA、または、p40染色を伴わないムチカルミン陰性の未分化癌では、S-MARCA4欠損癌を考慮したうえで、巨細胞癌の診断を行うことができます。

## 結論

日常的には、TTF1とp40はたいていの場合、非小細胞癌を細分類することができるので、形態的特性や神経内分泌形態を定義する必要もありません。転移や希有な変異が疑われる場合には、このパネルを拡大することもできます。

## 参考文献

- Agaimy A, Fuchs F, Moskalev EA, et al. SMARCA4-deficient pulmonary adenocarcinoma: clinicopathological, immunohistochemical, and molecular characteristics of a novel aggressive neoplasm with consistent TTF1<sup>neg</sup>/CK7<sup>pos</sup>/HepPar-1<sup>pos</sup> immunophenotype. *Virchows Arch.* 2017;471(5):599-609.
- Bishop JA, Teruya-Feldstein J, Westra WH, et al. p40 ( $\Delta$ Np63) is superior to p63 for the diagnosis of pulmonary squamous cell carcinoma. *Mod Pathol.* 2012;25(3):405-415.
- Gurda GT, Zhang L, Wang Y, et al. Utility of five commonly used immunohistochemical markers TTF1, napsin A, CK7, CK5/6 and P63 in primary and metastatic adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the lung: a retrospective study of 246 fine needle aspiration cases. *Clin Transl Med.* 2015;4:16.
- Haack H, Johnson LA, Fry CJ, et al. Diagnosis of NUT midline carcinoma using a NUT-specific monoclonal antibody. *Am J Surg Pathol.* 2009;33(7):984-991.
- Herpel E, Rieker RJ, Dienemann H, et al. SMARCA4 and SMARCA2 deficiency in non-small cell lung cancer: immunohistochemical survey of 316 consecutive specimens. *Ann Diagn Pathol.* 2017;26:47-51.
- Johansson L. Histopathologic classification of lung cancer: relevance of cytokeratin and TTF-1 immunophenotyping. *Ann Diagn Pathol.* 2004;8(5):259-267.
- Kadota K, Nitadori J, Rekhtman N, et al. Reevaluation and reclassification of resected lung carcinomas originally diagnosed as squamous cell carcinoma using immunohistochemical analysis. *Am J Surg Pathol.* 2015;39(9):1170-1180.
- Kashima K, Hashimoto H, Nishida H, et al. Significant expression of thyroid transcription factor-1 in pulmonary squamous cell carcinoma detected by SPT24 monoclonal antibody and CSA-II system. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2014;22(2):119-124.
- Koh J, Go H, Kim MY, et al. A comprehensive immunohistochemistry algorithm for the histological subtyping of small biopsies obtained from non-small cell lung cancers. *Histopathology.* 2014;65(6):868-878.
- Loo PS, Thomas SC, Nicholson MC, et al. Subtyping of undifferentiated non-small cell carcinomas in bronchia biopsy specimens. *J Thorac Oncol.* 2010;5(4):442-447.
- Matsubara D, Kishaba Y, Yoshimoto T, et al. Immunohistochemical analysis of the expression of E-cadherin and ZEB1 in non-small cell lung cancer. *Pathol Int.* 2014;64(11):560-568.
- Mukhopadhyay S, Katzenstein AL. Comparison of monoclonal napsin A, polyclonal napsin A, and TTF-1 for determining lung origin in metastatic adenocarcinomas. *Am J Clin Pathol.* 2012;138(5):703-711.
- Nicholson AG, Gonzalez D, Shah P, et al. Refining the diagnosis and EGFR status of non-small cell lung carcinoma in biopsy and cytologic material, using a panel of mucin staining, TTF-1, cytokeratin 5/6, and P63, and EGFR mutation analysis. *J Thorac Oncol.* 2010;5(4):436-441.
- Noh S, Shim H. Optimal combination of immunohistochemical markers for subclassification of non-small cell lung carcinomas: a tissue microarray study of poorly differentiated areas. *Lung Cancer.* 2012;76(1):51-55.
- Ordenez NG. Value of thyroid transcription factor-1 immunostaining in tumor diagnosis: a review and update. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2012;20(5):429-444.
- Rekhtman N, Ang DC, Sima CS, et al. Immunohistochemical algorithm for differentiation of lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma based on large series of whole-tissue sections with validation in small specimens. *Mod Pathol.* 2011;24(10):1348-1359.
- Righi L, Graziano P, Fornari A, et al. Immunohistochemical subtyping of nonsmall cell lung cancer not otherwise specified in fine-needle aspiration cytology: a retrospective study of 103 cases with surgical correlation. *Cancer.* 2011;117(15):3416-3423.
- Travis WD, Brambilla E, Burke AP, et al, eds. *WHO Classification of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart.* 4th ed. International Agency for Research on Cancer (IARC) Press; 2015.

Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al. International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol*. 2011;6(2):244-285.

Viswanathan K, Siddiqui MT, Borczuk AC. The diagnostic utility of zinc E-box-1 (ZEB1) transcription factor for identification of pulmonary sarcomatoid carcinoma in cytologic and surgical specimens. *J Am Soc Cytopathol*. 2019;9(1):55-61.

Warth A, Muley T, Herpel E, et al. Large-scale comparative analyses of immunomarkers for diagnostic subtyping of non-small-cell lung cancer biopsies. *Histopathology*. 2012;61(6):1017-1025.

Whithaus K, Fukuoka J, Prihoda TJ, et al. Evaluation of napsin A, cytokeratin 5/6, p63, and thyroid transcription factor 1 in adenocarcinoma versus squamous cell carcinoma of the lung. *Arch Pathol Lab Med*. 2012;136(2):155-162.

Yatabe Y, Dacic S, Borczuk AC, et al. Best practice recommendations for diagnostic immunohistochemistry in lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2019;14(3):377-407.

# 甲状腺転写因子-1

# 7

執筆者：Prudence A. Russell, Jin-Haeng Chung, Yasushi Yatabe

## はじめに

甲状腺転写因子-1 (TTF1: Thyroid transcription factor-1) はホメオドメイン転写因子のNKX2-1遺伝子ファミリーに属する38 kDa核タンパク質であり、染色体14q13 (2012年b Ordonez氏)上のNKX2-1遺伝子によりコードされます。これは、肺や甲状腺の発達に必要です。正常な肺では、TTF1は、クラブ(旧称クララ)細胞の分泌タンパク質や肺特異的サーファクタントタンパク質の産生を促進し、II型肺細胞やクラブ細胞の核に発現し、有効な陽性内部コントロールとなります(2012年b Ordonez氏)。TTF1は、臨床現場で最も有用で広く利用されている抗体の1つです。TTF1は通常、2つの主要な臨床病理学的背景、すなわち、原発性肺腺癌と他の原発部位の癌との鑑別、および形態学的に確定できない非小細胞癌(NSCC: non-small cell carcinoma)における肺腺癌と扁平上皮癌との鑑別診断において用いられます。これらの2つの背景では、TTF1染色の特異性が必要であり、これは感度とトレードオフの関係にあります。さらに、肺と非肺の出現部位の鑑別、肺腺癌と扁平上皮癌の鑑別は、精密医療の時代に、進行したNSCC患者の管理に関する意思決定を導くために最も重要です。後者の問題については、第5章でより広範に検討します。当然のことかもしれませんが、病理医はTTF1が甲状腺上皮性腫瘍に広く発現していることを覚えておくことが重要です。TTF1はまた、小細胞肺癌の最大90%、大細胞神経内分泌癌の2/3、紡錘細胞カルチノイド腫瘍(第6章を参照)にも認められます(2015年a、2015年b Travis氏他)。

本章では、肺腺癌と肺外腺癌、特に少量のサンプルを検査する場合、および扁平上皮癌との鑑別におけるTTF1の重要な役割について、最も広範に使用されているTTF1クローン間の染色上の差、およびTTF1陽性に必要な陽性反応の程度に焦点を当てて検討します。また、TTF1の免疫染色に関する解析前の問題点についても検討します。

## TTF1クローン間で肺腺癌に染色上の違いはあるか？

市販されているTTF1クローンには、ウサギやヤギのポリクローナル抗体、マウスのモノクローナル抗体(8G7G3/1、SPT24、BGX-397A、SMP150、および5S143クローンなど)、ウサギのモノクローナル抗体(SP141、EP15844、C12-I、およびG21-Gクローンなど)などのさまざまなものがあります(2012年b Ordenez氏)。ただし、マウスのモノクローナル抗体8G7G3/1とSPT24、さらには最近入手可能になったウサギのモノクローナル抗体SP141が、臨床現場で最も広範に使用されており(2012年a、2012年b Ordenez氏、2015年Smits氏他、2016年Klebe氏他、2016年Tran氏他)、ここではこれらを取り上げます。

肺腺癌を最初に検出するための異なるクローンに関して、報告された感度と特異性を確認してみたところ、最近のレビューでは、37件の発表された研究全体において、肺腺癌症例の76.7%が8G7G3/1クローンで陽性であったのに対し、7件の研究において肺腺癌症例の81.3%がSPT24クローンで陽性であったことが判明しました(2012年b Ordenez氏)。広く使用されている3つのTTF1クローンすべてを比較した唯一の研究では、陽性反応を示すために1%の染色をカットオフとして使用しつつ、肺腺癌の89%が8G7G3/1で、93%がSPT24で、93%がSP141で陽性に染色されました(2018年Vidarsdottir氏他)。これらの結果から明白なのは、8G7G3/1クローンはSPT24およびSP141の両クローンと比較して、肺腺癌の検出感度が低いということです(図7-1)。

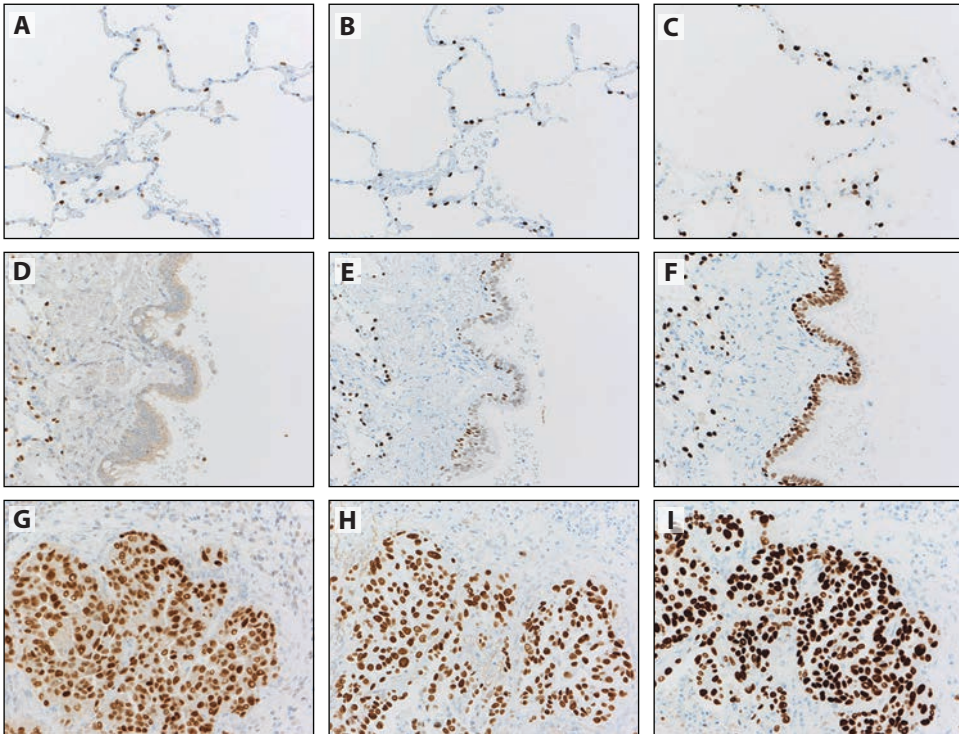


図7-1.8G7G3/1 (パネルA、D、G)、SPT24 (パネルB、E、H)、SP141 (パネルC、F、I)を使用した、非腫瘍性肺組織(A-C)末梢実質と(D-F)気管支上皮および固形腺癌(G-I)における甲状腺転写因子-1 (TTF1)の染色。検出システムと増幅法が異なるため、各クローン間で強度が異なります(8G7G3/1にはDako Flexシステム、SPT24およびSP141にはOptiView DAB IHC Detection Kit)。しかし、陽性分布は、気管支上皮では染色範囲が異なるのに対し、末梢実質と腺癌では同じでした。



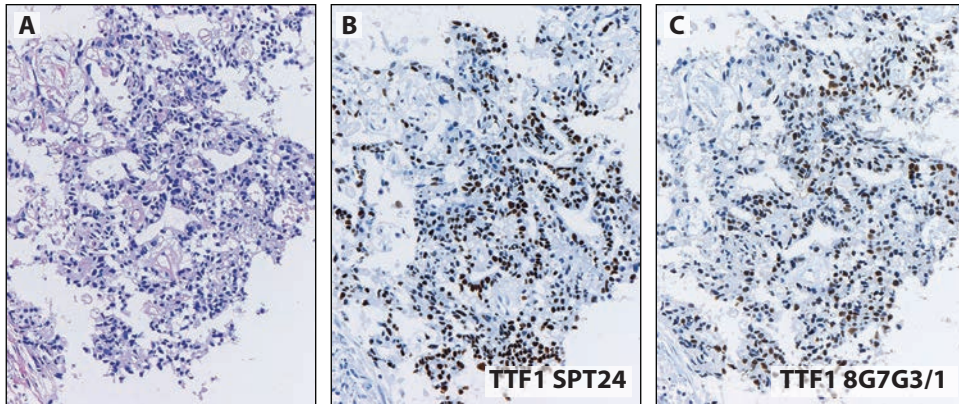


図7-2.肺に転移する卵巣癌の甲状腺転写因子 - 1 (TTF1)の発現(A) 腫瘍細胞 (H&E)は、(B) SPT24と(C) 8G7G3/1クローンの両方で陽性反応を示します。婦人科腫瘍におけるTTF1の発現は、転移と原発性肺腺癌との鑑別診断の落とし穴になる可能性があります。

表7-1.女性生殖器、乳房、結腸、胃など、肺以外の原発部位の腫瘍におけるTTF1の発現に関する公表されたいくつかの論文の結果<sup>a</sup>

原発性癌	8G7G3/1		SPT24	
	n	陽性、n (%)	n	陽性、n (%)
卵巣癌	615	22 (3.6%)	161	16 (9.9%)
子宮内膜腺癌	215	17 (7.9%)	68	19 (27.9%)
子宮頸部腺癌	92	3 (3.3%)	39	6 (15.4%)
子宮頸部扁平上皮癌	7	0 (0%)		
乳癌	297	4 (1.5%)	580	13 (2.4%)
結腸腺癌	594	11 (1.8%)	258	15 (5.8%)
胃腺癌	170	3 (1.8%)	110	1 (0.9%)

<sup>a</sup> 8G7G3/1クローンおよびSPT24クローンのデータは、2012年b Ordenez氏のデータをもとに修正。

肺腺癌と他の原発部位からの腺癌との鑑別を考慮しつつ、SPT24クローンおよび8G7G3/1クローンを比較した最近のレビューでは、肺以外の原発部位からの腺癌のごく一部がTTF1に対して陽性である可能性があることが分かりました(2012年b Ordenez氏)。これらの原発部位には、女性生殖器(図7-2)、乳房、結腸、胃が含まれ、8G7G3/1クローンよりもSPT24クローンのほうが染色率が高いことが報告されています(表7-1)。なお、SPT24クローンは、TTF1タンパク質との結合が強いとされ、その結果、8G7G3/1クローンと比較して、より均一な核陽性と予測不能な細胞質染色が得られました。これは、肝細胞と肝細胞癌の両方の細胞質に非特異的な染色を示すことができます(2018年Bae氏他、2004年Pan氏他、2015年Smits氏他)。8G7G3/1クローンと比較すると、肺以外の部位に発生した癌でSPT24の染色が高くなっているのは、SPT24の結合力が強くなっているからだと考えられます(2015年Smits氏他、2005年Compérat氏他)。また、非腫瘍性の基底気管支上皮細胞の中にはSPT24で染色されるものがあります。したがって、このクローンを使用する場合、特に組織が高度に断片化している場合には(図7-3)、腫瘍細胞の陽性染色は非腫瘍性細胞にみられるものと区別されるべきです(第5章の詳細な考察も参照)。SP141クローンの染色性能を調査した、より新しい文献は数が少ないです。しかしながら、入手可能な調査



(2018年Vidarsdottir氏他、2016年Klebe氏他、2018年Bae氏他、2019年Prabhakaran氏他)はすべて、SP141クローンがSP24クローンと類似の特性を有することを示しているように思われ、8G7G3/1クローンと比較して肺腺癌の検出における特異性が低いです(表7-2を参照)。

肺腺癌と扁平上皮癌の鑑別診断において、最近のいくつかの研究では、肺扁平上皮癌におけるTTF1の陽性発現は全体的に低い割合で認められましたが、SPT24クローンでは高い割合が報告されており、8G7G3/1クローンでははるかに低い割合が、または染色されないことが報告されています(表7-2、図7-4)(2018年Vidarsdottir氏他、2012年a Ordenez氏、2010年Matoso氏他、2015年Kadota氏他、2014年Kashima氏他)。同様の所見がSP141クローンを用いた場合も報告されており(2018年Vidarsdottir氏他、2016年Klebe氏他)、少数の扁平上皮癌で陽性が認められましたが、8G7G3/1クローンではすべて陰性でした

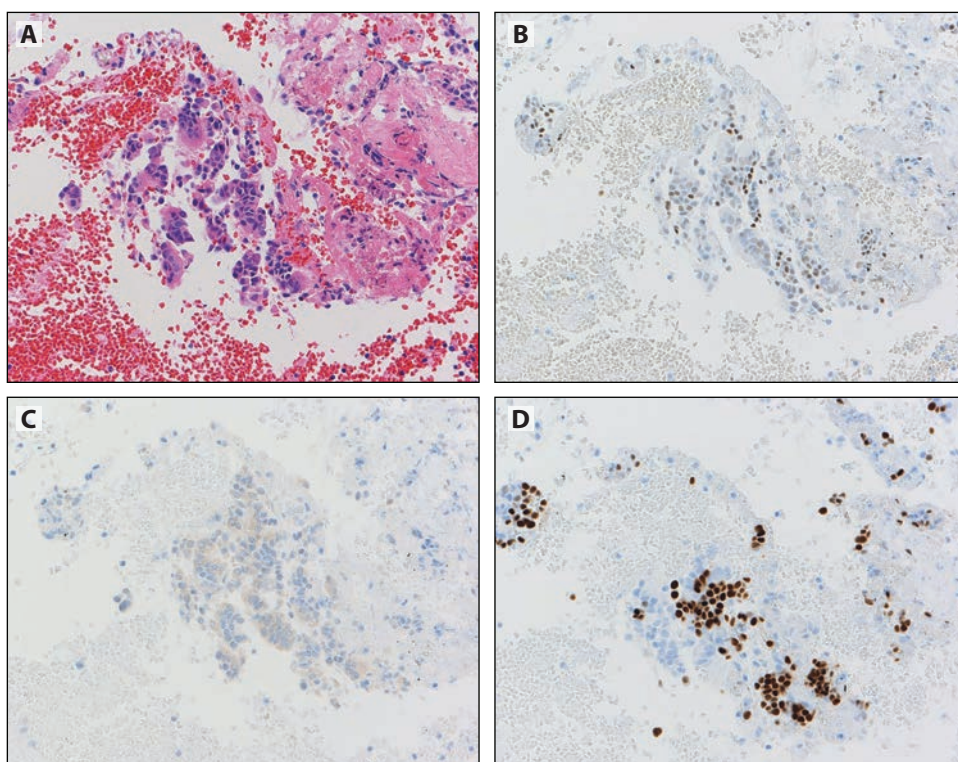


図7-3.(A) 非腫瘍性の気管支上皮の断片(H&E)。(B) SPT24クローンでは陽性ですが、(C) 8G7G3/1クローンでは陰性。(D) p40染色の陽性細胞はSPT24陽性細胞と重複しており、気管支基底細胞がSPT24クローンに反応していることが示唆されます。

表7-2. 広く使用されている3種類のTTF1クローンすべてを用いた3つの公開された研究における、大腸や前立腺を含む肺以外の原発部位からのTTF1の発現の結果。

		8G7G3/1		SPT24		SP141	
		n	陽性、n (%)	n	陽性、n (%)	n	陽性、n (%)
2018年Vidarsdottir氏他	結腸癌	166	3 (2%)	166	7 (4%)	166	7 (4%)
2018年Bae氏他	結腸癌	1,319	0 (0%)	1,319	68 (5%)	1,319	68 (5%)
2019年Prabhakaran氏他	結腸癌	104	2 (2%)	104	6 (5.7%)	104	6 (5.7%)
2019年Prabhakaran氏他	前立腺癌	112	6 (5.3%)	112	31 (28%)	112	26 (23%)

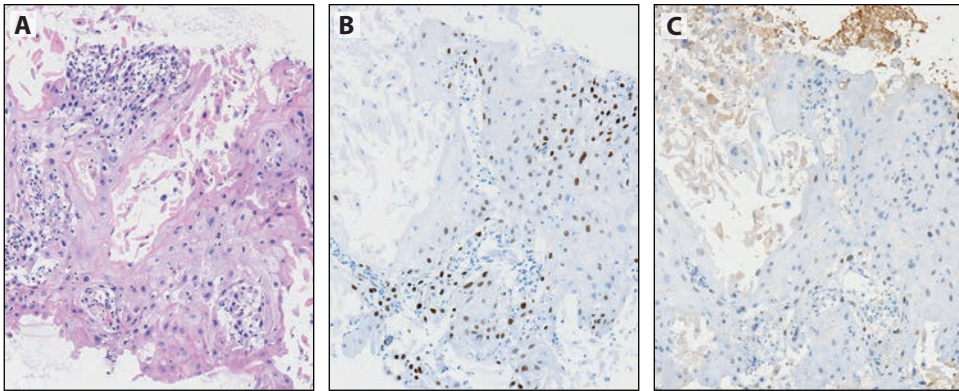


図7-4.(A) 肺の原発性扁平上皮癌における抗体クローンによる甲状腺転写因子-1 (TTF1)の発現。(A) H&E染色では、高分化の扁平上皮癌が認められました。(B) SPT24クローンの染色による陽性反応と、(C) 8G7G3/1クローンの弱陽性または陰性反応との対比。

表7-3.広く使用されている3種類のTTF1クローンすべてを用いた肺扁平上皮癌におけるTTF1の発現

扁平上皮癌	8G7G3/1		SPT24		SP141	
	n	陽性、n (%)	n	陽性、n (%)	n	陽性、n (%)
2018年Vidarsdottir氏他	201	0 (0%)	201	12 (6%)	201	16 (8%)
2016年Klebe氏他	12	0 (0%)			12	5 (42%)
Ordenez 2012a	85	0 (0%)				
2010年Matoso氏他	97	1 (1%)	97	14 (16.8%)		
2015年Kadota氏他	449	0 (0%)	448	27 (6%)		
2014年Kashima氏他	38 38	1 (3%)、EnVision <sup>a</sup> を使用 <sup>a</sup> 4 (11%)、CSA-II <sup>c</sup> を使用	38 38	5 (13%)、EnVision <sup>b</sup> を使用 20 (53%)、CSA-II <sup>b</sup> を使用		

<sup>a</sup> EnVisionはDako社の製品です。

<sup>b</sup> 研究では、8G7G3/1クローンとSPT24クローンを、同一シリーズの症例で直接比較。

<sup>c</sup> CSA-IIはRoche Tissue Diagnostics社の製品です。

(表7-3)。TTF1免疫組織化学(IHC)が現在、2015年の世界保健機関(WHO)分類において低分化腺癌の特徴を定義するうえで重要な役割を果たしていることを考えると(2015年 a Travis氏他)、抗体クローンの性能におけるこれらの違いの重要性はさらに増します(第6章参照)。実質的に、肺扁平上皮癌におけるTTF1の発現を調査した研究では、シグナル増幅システム(触媒シグナル増幅 [CSA]-II検出システム)を用いて、肺扁平上皮癌においてSPT24陽性の増加が認められました。この研究の中で、著者らは、肺の原発性扁平上皮癌と、頭頸部などの原発部位から肺への転移を鑑別できる可能性がある」と指摘しています(2014年Kashima氏他)。この方法を臨床で使用するには、さらなるデータが必要です。

全体として、入手可能な文献によると、原発性肺腺癌と肺以外の部位からの腺癌との区別および肺腺癌と扁平上皮癌との鑑別診断など、TTF1が使用される一般的な臨床病理学的シナリオの両方において、SP141クローンやSPT24クローンと比較した場合、8G7G3/1クローンは肺腺癌の検出に対する特異性が高いことが示されているようです。

### まとめの回答

TTF1の染色性能はクローン間で異なります。最も頻繁に使用される抗体の中で、8G7G3/1は肺腺癌を同定するための最も特異的な抗体です。



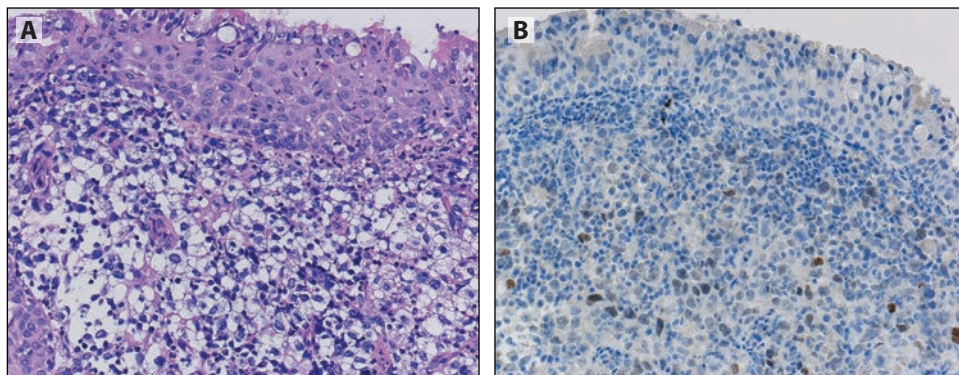
## どの程度のTTF1染色であれば陽性の検査結果と判断されるか？

前述の2つの一般的な臨床病理学的背景では、TTF1が局所的に陽性であれば陽性反応とみなされることが認められています。しかし、ここで問題となるのは、局所的な染色の定義(たとえば、1%対10%対50%など)と、クローンの違いがこれに影響するかどうかということです。入手可能な文献によると、陽性反応を示すために用いられる染色の量は、使用するTTF1クローンによって影響を受ける可能性があるようです。

Smitsおよび共同研究者は、8G7G3/1とSPT24のクローンを用いて、両クローンで陽性に対する同じカットオフ値を使用した場合、すべてのカットオフ値でクローン間に有意差があり、その結果、カットオフ値が高い場合は8G7G3/1の感度が低く、カットオフ値が低い場合はSPT24の特異性が低くなることを同定しました(2015年Smits氏他)。8G7G3/1に対する染色が5%超、SPT24に対する染色が50%超という各クローンの最適なカットオフ値を決定した後、感度(8G7G3/1の0.79に対してSPT24は0.82)および特異性(8G7G3/1の0.98に対してSPT24は0.98)に有意な差はみられませんでした(2015年Smits氏他)([図7-5](#))。

最近の研究(2018年Vidarsdottir氏他)では、肺扁平上皮癌および肺転移から、非扁平上皮肺癌を区別するために、広く使用されている3つのクローンすべてを調査したところ、受信者動作特性(ROC: receiver operating characteristic)曲線解析の結果、8G7G3/1およびSPT24の両クローンの最適なカットオフ値は1%の染色(曲線の下領域(AUC: area under curve)が8G7G3/1では0.92、SPT24では0.94)であった一方で、SP141クローンの最適なカットオフ値は10%の染色(AUCは0.93)であることが同定されました。他の肺癌および肺転移から肺腺癌を分離するためにROC分析を行った場合、SPT24では10%、SP141では50%というより高いカットオフ値が必要でしたが(SPT24クローンおよびSP141クローンともにAUCは0.93)、8G7G3/1クローンでは1%の染色が最適なカットオフ値のままでした(AUCは0.93)。

したがって、これらの最近の研究によれば、TTF1との陽性反応を示す局所的な染色の量は、最も広く使用されている3つのクローン間で異なるようです([図7-1](#))。これらの所見を検証するためには、さらなる研究が必要ですが、より特異的な8G7G3/1クローンの陽性反応を示す最適なカットオフ値は、より感度の高いクローンであるSPT24やSP141の最適なカットオフ値よりもかなり低いようです。病理医は、適切な臨床的背



**図7-5.(A)** 低分化癌(H&E)における甲状腺転写因子-1(TTF1)染色**(B)** この陽性範囲でも8G7G3/1クローンでは、この検体はTTF1に対して陽性と考えるべきです。

景のもとで肺腺癌を検出する目的で同等の信頼性を確保するために、研究室で特定のTTF1クローンを選択、使用、解釈する際に、これらの報告された最適なカットオフ値の違いを考慮することが推奨されます。実際には、8G7G3/1クローンを、特に少量のサンプルで使用する場合には、いかなる強度の、どのような陽性反応であっても「陽性」とみなすことができます。

### まとめの回答

TTF1の局所的な陽性反応は、適切な臨床的背景においては肺腺癌を示す陽性反応と考えられますが、最適なカットオフ値はクローンによって異なります。

### TTF1の免疫染色では解析前に考慮すべき事項があるか？

TTF1の免疫染色については、解析前の注意点がありますが、その中でも特筆すべきものがあります。最近の研究では、CytoLytを含むアルコールベースの固定剤で固定した細胞診標本、およびギ酸や塩酸などの脱灰剤を使用した外科病理標本では、TTF1の染色が減少または消失していることが分かりました(2015年Gruchy氏他)。このようなTTF1染色の減少は、通常の10%緩衝ホルマリンでのみ固定した標本ではみられませんでした。IHCプロトコルは、より穏やかなエチレンジアミン四酢酸(EDTA)ベースの溶液を使用する場合であっても、アルコールベースの固定剤での固定や脱灰処理など、試験組織と同じ解析前の条件を満たす対照組織で検証する必要があることを認識することが重要です。10%緩衝ホルマリンで固定した組織用に開発されたIHCプロトコルは、アルコールで固定した組織に使用すると、最適な結果が得られない場合があります。

ついでながらに言うと、外科的に切除された肺腺癌標本において、TTF1発現の染色勾配が観察されることがあります。これは、固定が不十分であることが、所定の染色プロトコルでのエピトープの検出の不十分さに関係している可能性を示唆しています。

### まとめの回答

TTF1免疫染色に関していくつかの特異的な解析前の注意点があります。主に、アルコールベースの固定液で固定した検体や、ある種の脱灰剤を使用した検体では、染色の減少や消失がみられます。

### 結論

TTF1の染色能は抗体クローン間で異なるため、病理医はその特徴を認識し、どのクローンを使用するかについて十分な情報を得たうえで決定する必要があります。このことは、肺癌の分類のいくつかの側面におけるこのマーカーが果たす重要な役割を考えると、極めて重要であり、治療上も大きな意味を持っています。

### 参考文献

Bae JM, Kim JH, Park JH, et al. Clinicopathologic and molecular implications of aberrant thyroid transcription factor-1 expression in colorectal carcinomas: an immunohistochemical analysis of 1319 cases using three different antibody clones. *Histopathology*. 2018;72(3):423-432.

Compérat E, Zhang F, Perrotin C, et al. Variable sensitivity and specificity of TTF-1 antibodies in lung metastatic adenocarcinoma of colorectal origin. *Mod Pathol*. 2005;18(10):1371-1376.

Gruchy JR, Barnes PJ, Dakin Hache KA. CytoLyt fixation and decalcification pretreatments alter



- antigenicity in normal tissues compared with standard formalin fixation. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2015;23(4):297-302.
- Kadota K, Nitadori J, Rekhman N, et al. Reevaluation and reclassification of resected lung carcinomas originally diagnosed as squamous cell carcinoma using immunohistochemical analysis. *Am J Surg Pathol*. 2015;39(9):1170-1180.
- Kashima K, Hashimoto H, Nishida H, et al. Significant expression of thyroid transcription factor-1 in pulmonary squamous cell carcinoma detected by SPT24 monoclonal antibody and CSA-II system. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2014;22(2):119-124.
- Klebe S, Swalling A, Jonavicius L, et al. An immunohistochemical comparison of two TTF-1 monoclonal antibodies in atypical squamous lesions and sarcomatoid carcinoma of the lung, and pleural malignant mesothelioma. *J Clin Pathol*. 2016;69(2):136-141.
- Matoso A, Singh K, Jacob R, et al. Comparison of thyroid transcription factor-1 expression by 2 monoclonal antibodies in pulmonary and nonpulmonary primary tumors. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2010;18(2):142-149.
- Ordonez NG. Thyroid transcription factor-1 is not expressed in squamous cell carcinomas of the lung: an immunohistochemical study with review of the literature. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2012;20(6):525-530 (a)
- Ordonez NG. Value of thyroid transcription factor-1 immunostaining in tumor diagnosis: a review and update. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2012;20(5):429-444. (b)
- Pan CC, Chen PC, Tsay SH, et al. Cytoplasmic immunoreactivity for thyroid transcription factor-1 in hepatocellular carcinoma: a comparative immunohistochemical analysis of four commercial antibodies using a tissue array technique. *Am J Clin Pathol*. 2004;121(3):343-349.
- Prabhakaran S, Woo WLW, Xing G, et al. The incidence of labelling of non-lung adenocarcinomas with antibodies against TTF-1 and diagnostic implications. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. Published online May 23, 2019. doi:10.1097/PAI.0000000000000775
- Smits AJ, Vink A, Tolenaars G, et al. Different cutoff values for thyroid transcription factor-1 antibodies in the diagnosis of lung adenocarcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2015;23(6):416-421.
- Tran L, Mattson JS, Nodin B, et al. Various antibody clones of napsin A, thyroid transcription factor 1, and p40 and comparisons with cytokeratin 5 and p63 in histopathologic diagnostics of non-small cell lung carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2016;24(9):648-659.
- Travis WD, Brambilla E, Burke AP, et al, eds. *WHO Classification of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart*. 4th ed. International Agency for Research on Cancer (IARC) Press; 2015. (a)
- Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG, et al. The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors: impact of genetic, clinical and radiologic advances since the 2004 WHO classification. *J Thorac Oncol*. 2015;10(9):1243-1260. (b)
- Vidarsdottir H, Tran L, Nodin B, et al. Comparison of three different TTF-1 clones in resected primary lung cancer and epithelial pulmonary metastases. *Am J Clin Pathol*. 2018;150(6):533-544.

# 肺癌におけるp40およびp63の免疫組織化学

# 8

執筆者: Teh-Ying Chou, Wendy A. Cooper

## はじめに

p63遺伝子はp53腫瘍抑制遺伝子のホモログであり、上皮の発生に必要な前駆細胞集団の増殖または分化に必要です(2013年Nobre氏他)。p63遺伝子は、染色体3q27-29に位置し、15個のエクソンを含み、p53と顕著な配列および構造の相同性を示しています。p53と同様に、p63遺伝子はN末端トランス活性化ドメイン、コアDNA結合ドメイン、カルボキシオリゴマー化ドメインをコードします。p63は通常は、皮膚、食道、扁桃、尿路上皮、子宮外膜、膈などの層状上皮の基底細胞や前駆細胞、胸腺、前立腺、乳房、気管支などの腺構造の基底細胞の核に発現します(Di Como氏他2002)。

p63アイソフォームは2つの主要なグループ(TAp63と $\Delta$ Np63)に分類されるいくつかの変異体から成り、N末端ドメインで構造が異なります(2002年Nylander氏他)。TAp63アイソフォームは、p53と相同性のあるトランス活性化コンピテントTAドメインを含み、増殖阻害遺伝子の発現を制御します。しかし、 $\Delta$ Np63アイソフォームは、TAp63とp53の活性に拮抗し、したがって癌タンパク質として作用すると考えられる、代替転写不活性 $\Delta$ Nドメインを含んでいます。p63抗体は、TAp63および $\Delta$ Np63アイソフォームの両方を認識するため、pan-63マーカーです。一方、p40抗体は、 $\Delta$ Np63アイソフォームに対する抗体であり、TAp63アイソフォームを認識しません。

## どのような場合にp63ではなくp40を使用すべきか?

病理検査室で最も広く使用されているp63抗体クローンは4A4であり、扁平上皮癌に対して94%から100%の優れた感度を示します。しかし、p63免疫組織化学の主な限界は、肺腺癌(16%~65%)や、大細胞リンパ腫(最大1/2)(2012年Bishop氏他)などの他の悪性腫瘍、さらには、まれに一部の軟部組織腫瘍(2011年JoおよびFletcher氏)の予想外の発現が原因となる、特異性の低さです。非扁平上皮腫瘍における発現は、通常、少数の細胞で弱~中程度ですが、まれに激しく、拡散した発現が観察されることがあります。

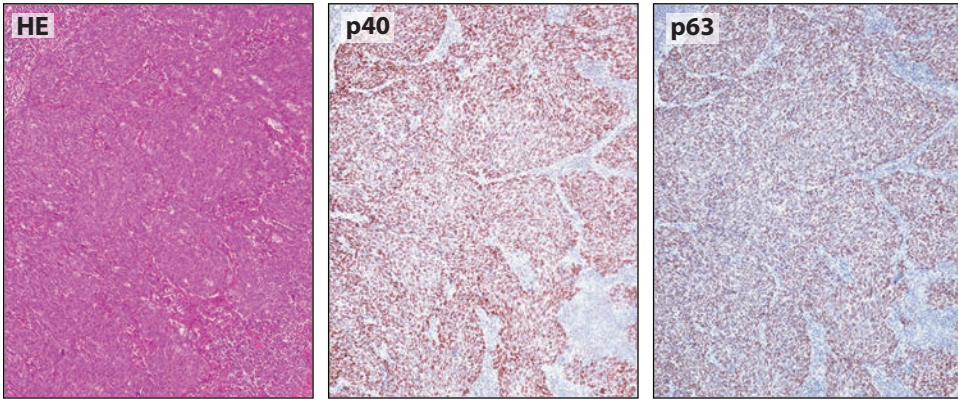


図8-1.p40とp63の強いびまん性の発現を示す低分化扁平上皮癌。HE = ヘマトキシリンエオジン: hematoxylin-eosin

いくつかの研究では、p40がp63と同等の高い感度を有するけれども、扁平上皮癌に対してはより高い特異性を有し、扁平上皮の分化を同定するための信頼できるマーカーであることが示されています(図8-1および8-2)(2019年Kriegsmann氏他)。ポリクローナルおよびモノクローナルp40抗体(クローンBC28)はいずれも研究室で使用されており、ある研究ではポリクローナル抗体とモノクローナル抗体との間で高い一致を示す同等の

感度および特異度を示しています(2016年Tran氏他)。p40は、p63よりも扁平上皮癌の識別精度が高いです。ただし、腫瘍に扁平上皮分化の形態学的証拠(角化または細胞間橋)がある場合は、確認のために免疫組織化学(IHC)を必要としないことに留意すべきです。小生検サンプルにおける形態的に未分化の非小細胞肺癌の場合、扁平上皮癌マーカーと腺癌マーカー(例: p40およびTTF1)の両方を使用して腫瘍の亜群を決定すべきです。同じ腫瘍細胞に、p63/p40とTTF1の両方が発現している場合、TTF1の発現がp63/p40よりも優先され、その腫瘍は腺癌であると考えられます(2013年Travis氏他)。ある研究では、未分化リンパ腫キナーゼ(ALK: anaplastic lymphoma kinase)陽性腺癌ではTTF1とp63の共発現が高頻度に検出されますが、TTF1とp40の共発現は認められないことが明らかになっています(2013年Sakai氏他)。

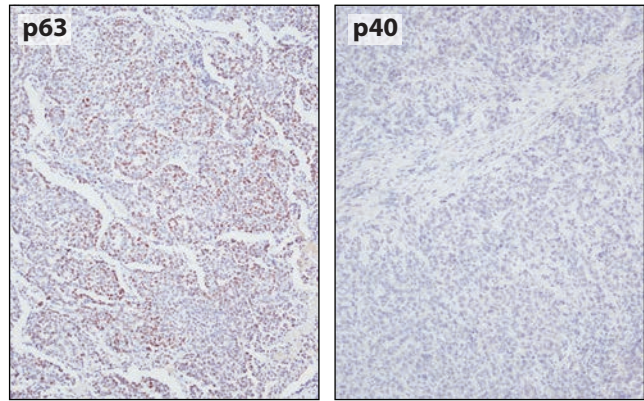


図8-2.p63は扁平上皮癌に対して特異的ではありません。p63にかなりのびまん性の発現が見られ、p40には発現が見られない低分化肺腺癌

### まとめの回答

形態学的に未分化の扁平上皮癌の同定においてはp40がp63よりも優れた精度を示すため、p40を使用すべきです。



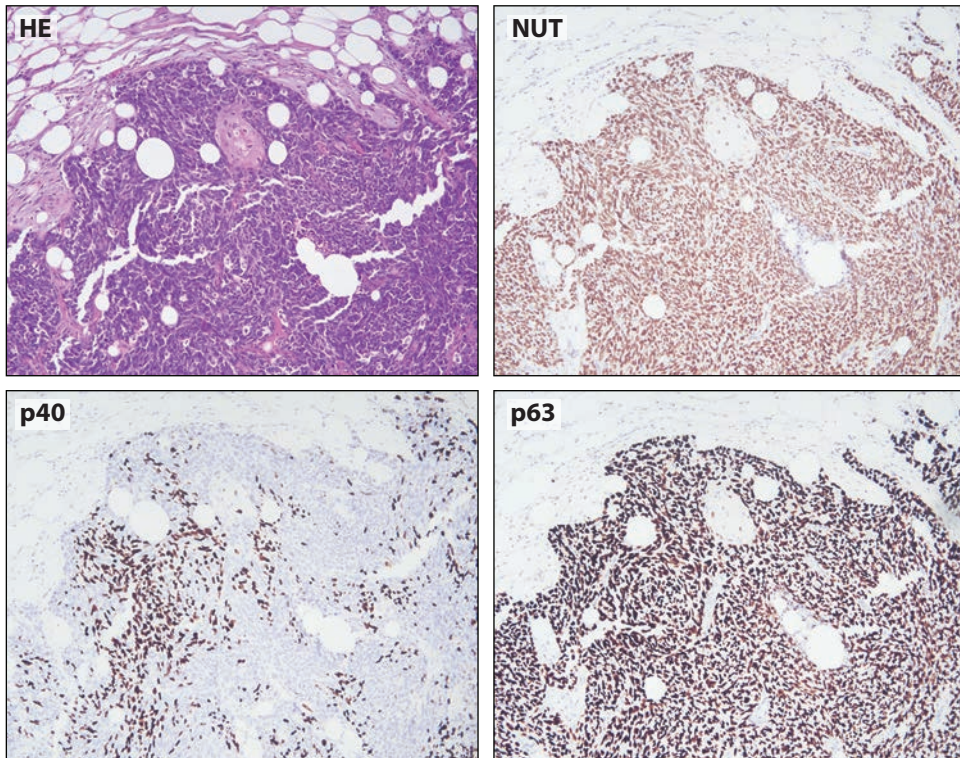


図8-3.限局性のp40およびびまん性のp63の発現を示す肺の精巣核タンパク質(NUT: Nuclear protein in testis)癌。HE = ヘマトキシリンエオジン: hematoxylin-eosin

### どのような場合にp40ではなくp63を使用すべきか？

精巣の核タンパク質(NUT: nuclear protein in testis)癌では、p63が広範囲に発現し、p40を発現している細胞が少ないという、p63とp40の間で発現が一致しない事例が見られる場合があります(図8-3)。このため、p40を使用する場合、特に生検の環境では、診断上の落とし穴が生じる可能性があります。したがって、鑑別診断としてNUT癌が含まれる場合、形態や他のIHCマーカーの評価に加えて、p40よりもp63の方が有用であると考えられます(NUT癌の詳細については第14章を参照)。

### まとめの回答

腫瘍の鑑別診断においてNUT癌が考慮される場合、p40よりもp63の方が有用であると考えられます。

### どの程度のp40/p63陽性反応を陽性とみなすべきか？

通常、扁平上皮癌では、p40とp63の強いびまん性の陽性反応が認められます(図8-1)。扁平上皮癌に特異的と判断するためには、p40およびp63のカットオフ値は、腫瘍核の50%超で陽性でなければなりません。腺癌や他の種類の腫瘍でもp40やp63の限局性の陽性や弱い陽性が認められることがあるので、核の10%未満の陽性を単独で診断分類に用いるべきではありません。10%~50%の陽性率は、形態学的特徴や他の免疫組織化学的所見とともに臨床的背景や染色の強度に左右されるので、



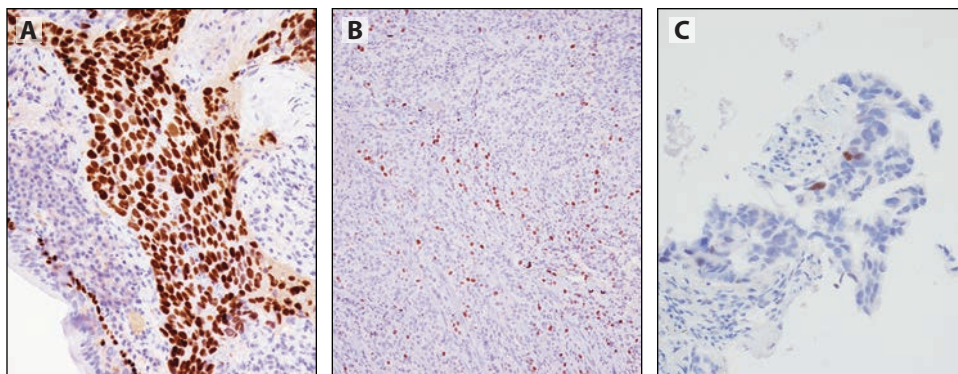


図8-4.肺癌におけるp40の発現レベルの違い。(A)強いびまん性p40染色を伴う扁平上皮癌。(B)約10%の核に斑状の染色が見られる腺癌。(C)ごく限局性のp40染色(核の5%未満)のみの腺癌。

考慮が必要です(図8-4)。サイトケラチン5/6 (CK5/6)のような他のIHCマーカーは、問題のある症例において有用なバックアップとなり得ます(2010年Loo氏他)(第9章を参照)。注目すべきこととして、扁平上皮癌の角化成分はp40が陰性であることが多いため、この成分の染色が陰性であっても扁平上皮癌の診断が除外されるわけではありません。しかし、角化が扁平上皮癌の診断基準であることを考えると、この状況ではp40の免疫染色は必要ありません。

### まとめの回答

通常、扁平上皮癌ではp40 (およびp63) に対してびまん性の強い陽性反応が見られ、核の少なくとも50%での発現は陽性とみなすべきです。

### 結論

日常的な診療では、形態学的特徴が不十分な場合、扁平上皮癌や扁平上皮の分化を同定するには、p63よりもp40の方が望ましいです(表8-1)。限局性の陽性や弱い陽性

表8-1.扁平上皮癌(SQCC: Squamous Cell Carcinoma) に対するp40とp63を比較した研究

研究	合計、 n	SQCC、 n	p40			p63		
			クローン	感度、 %	特異性、 %	クローン	感度、 %	特異性、 %
2012年Bishop氏他	470	81	5~17	100	98	4A4	100	60
2012年Nonaka氏	200	50	p40	100	100	4A4	100	82
2013年Pelosi氏他	141	27	Poly	100	97	4A4	100	78
2014年Ao氏他	154	77	Poly	81	90	4A4	94	80
2014年Koh氏他	184	59	Poly	93	98	7JUL	80	98
2014年Tatsumori氏他	580	158	5~17	97	97	4A4	97	73
2015年Kadota氏他	469	449	5~17	100	85	4A4	100	60
2016年Tran氏他	557	167	BC28	94	96	4A4	95	87
2016年Micke氏他	656	192	BC28	97	98	4A4	97	74
2018年Affandi氏他	70	35	BC28	77	100	DAK-p63	86	63
2019年Kriegsmann氏他	1244	569	BC28	94	97	4A4	94	84

では扁平上皮癌とは診断できないため、腫瘍核の50%以上に染色があることを陽性のカットオフとすべきです。問題のある症例では、CK5/6のような追加の扁平上皮マーカーを考慮すべきです。扁平上皮癌を他の腫瘍型と鑑別する際には、形態学的特徴および他のIHCマーカー（たとえば、未分化の非小細胞癌（NSCC: non-small cell carcinoma）におけるTTF1）も考慮すべきです。

## 参考文献

- Affandi KA, Tizen NMS, Mustangin M, et al. p40 immunohistochemistry is an excellent marker in primary lung squamous cell carcinoma. *J Pathol Transl Med.* 2018;52(5):283-289.
- Ao MH, Zhang H, Sakowski L, et al. The utility of a novel triple marker (combination of TTF1, napsin A, and p40) in the subclassification of non-small cell lung cancer. *Hum Pathol.* 2014;45(5):926-934.
- Bishop JA, Teruya-Feldstein J, Westra WH, et al. p40 ( $\Delta$ Np63) is superior to p63 for the diagnosis of pulmonary squamous cell carcinoma. *Mod Pathol.* 2012;25(3):405-415.
- Di Como CJ, Urist MJ, Babayan I, et al. p63 expression profiles in human normal and tumor tissues. *Clin Cancer Res.* 2002;8(2):494-501.
- Jo VY, Fletcher CD. P63 immunohistochemical staining is limited in soft tissue tumors. *Am J Clin Pathol.* 2011;136(5):762-766.
- Kadota K, Nitadori J, Rekhtman N, et al. Reevaluation and reclassification of resected lung carcinomas originally diagnosed as squamous cell carcinoma using immunohistochemical analysis. *Am J Surg Pathol.* 2015;39(9):1170-1180.
- Koh J, Go H, Kim MY, et al. A comprehensive immunohistochemistry algorithm for the histological subtyping of small biopsies obtained from non-small cell lung cancers. *Histopathology.* 2014;65(6):868-878.
- Kriegsmann K, Cremer M, Zgorzelski C, et al. Agreement of CK5/6, p40, and p63 immunoreactivity in non-small cell lung cancer. *Pathology.* 2019;51(3):240-245.
- Loo PS, Thomas SC, Nicolson MC, et al. Subtyping of undifferentiated non-small cell carcinomas in bronchial biopsy specimens. *J Thorac Oncol.* 2010;5(4):442-447.
- Micke P, Mattsson JS, Djureinovic D, et al. The impact of the fourth edition of the WHO classification of lung tumours on histological classification of resected pulmonary NSCCs. *J Thorac Oncol.* 2016;11(6):862-872.
- Nobre AR, Albergaria A, Schmitt F. p40: a p63 isoform useful for lung cancer diagnosis—a review of the physiological and pathological role of p63. *Acta Cytol.* 2013;57(1):1-8.
- Nonaka D. A study of  $\Delta$ Np63 expression in lung non-small cell carcinomas. *Am J Surg Pathol.* 2012;36(6):895-899.
- Nylander K, Vojtesek B, Nenutil R, et al. Differential expression of p63 isoforms in normal tissues and neoplastic cells. *J Pathol.* 2002;198(4):417-427.
- Pelosi G, Rossi G, Cavazza A, et al.  $\Delta$ Np63 (p40) distribution inside lung cancer: a driver biomarker approach to tumor characterization. *Int J Surg Pathol.* 2013;21(3):229-239.
- Sakai Y, Nakai T, Ohbayashi C, et al. Immunohistochemical profiling of ALK fusion gene-positive adenocarcinomas of the lung. *Int J Surg Pathol.* 2013;21(5):476-482.
- Tatsumori T, Tsuta K, Masai K, et al. p40 is the best marker for diagnosis pulmonary squamous cell carcinoma: comparison with p63, cytokeratin 5/6, desmocollin-3, and sox2. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2014;22(5):377-382.
- Tran L, Mattsson JS, Nodin B, et al. Various antibody clones of napsin A, thyroid transcription factor 1, and p40 and comparisons with cytokeratin 5 and p63 in histopathologic diagnostics of non-small cell lung carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2016;24(9):648-659.
- Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al. Diagnosis of lung cancer in small biopsies and cytology: implications of the 2011 International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society classification. *Arch Pathol Lab Med.* 2013;137(5):668-684.



# サイトケラチンマーカー

# 9

執筆者：Deepali Jain、Sylvie Lantuejoul、Ming Sound Tsao、Alain C. Borczuk

## はじめに

サイトケラチンは上皮細胞の細胞骨格を形成する中間径フィラメントです。20種類以上のケラチンが一组の塩基性/I型 (CK1-8) ケラチンと酸性/II型 (CK9-20) ケラチンで発現されます (1981年 Winter 氏 および Schweizer 氏、1985年 Eichner氏他、1985、2013年 Ordonez 氏)。それぞれの分類の中で、低分子量 (LMW: low-molecular-weight) ケラチンと高分子 (HMW: high-molecular-weight) ケラチンに分けられます。サイトケラチンの中には、特定の臓器や組織で発現するものがあり、その発現は一般的に腫瘍性形質転換後も維持されます。CK1～CK6 (塩基性) およびCK9～17 (酸性) は扁平上皮と基底上皮細胞に発現するHMWケラチンであるのに対し、LMWケラチンはCK7とCK8 (塩基性) およびCK18～20 (酸性) であり、腺上皮を含む単層上皮に発現する (1980年 Winter氏他)。サイトケラチンの発現プロファイルは、さまざまな腫瘍の起源を決定するために臨床現場で使用されるため、本章では肺腫瘍の診断におけるサイトケラチンのさまざまな価値について説明します。

## パンサイトケラチン染色とは何か、肺癌の診断におけるその役割とは？

AE1/AE3、KL1、MNF116、OSCARは、LMWおよびHMWケラチン両方の異なるタイプに反応する抗体カクテルです。表9-1は、さまざまなタイプのサイトケラチンに反応するモノクローナル抗体のうち、よく使われるクローンを示しています (2013年 Ordonez氏)。肺では、腺癌や扁平上皮癌において、細胞質にびまん性の陽性を示します (2008年 Tan氏 および Zander氏) (図9-1A および B)。核周囲および点状の発現は小細胞癌の特徴ですが (図9-1C および D)、びまん性の細胞質染色も見られます (2017年 Thunnissen氏他)。これらのパンサイトケラチン抗体カクテルは、腫瘍が形態学的に未分化であり、癌、メラノーマ、リンパ腫、中皮腫、肉腫の鑑別診断を担う場合に有用です (図9-1E および F)。ケラチン染色のびまん性かつ強い細胞質陽性反応は、実質的に癌の診断を確定します。リンパ腫、滑膜肉腫、類上皮肉腫、血管肉腫、および平滑筋腫瘍のサブグループはケラチン発現を示します。それらの場合には、さらに系統特異的なマーカーを実施すべきです。



表9-1.さまざまなタイプのケラチンに反応する、一般的に使用されているケラチン抗体のクローン

抗体クローン	ケラチンに対する反応性
AE1/AE3	CK1-8、10、14-16
CAM5.2	CK8、CK7 (反応の程度は低い)
KL1	CK1、K2、CK5-8、CK11、CK14、CK16-K18
Lu5	CK1、CK5、CK6、CK8、CK14、CK18、CK19
MNF116	CK5、6、8、17
OSCAR	CK7、8、18、19
Pan-CK	CK4-K8、CK10、CK13-CK16、CK18
34 $\beta$ E12	CK1、5、10、14

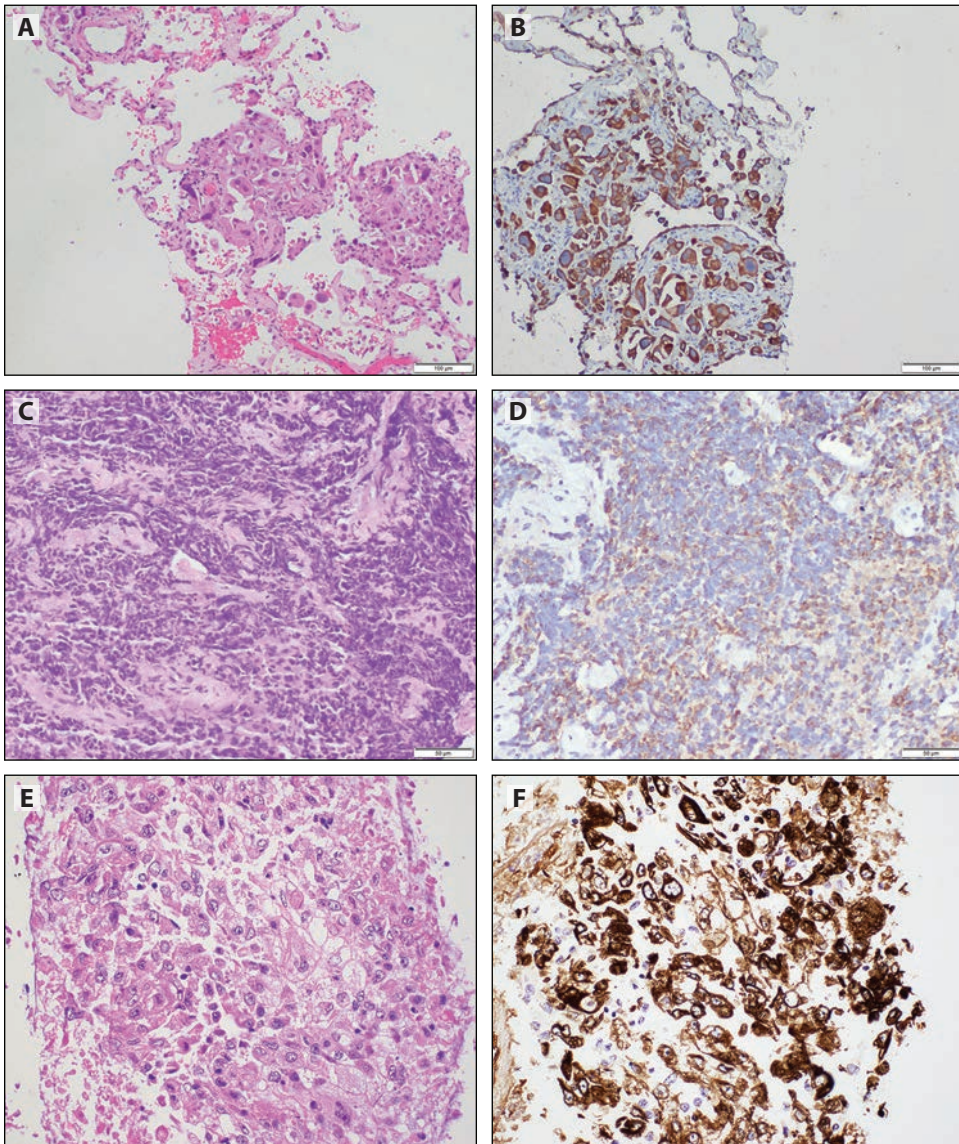


図9-1.パンサイトケラチン抗体は、形態学的に未分化な腫瘍を癌として同定するのに役立ちます。(AおよびB) 肺腺癌、(CおよびD) 小細胞癌、(EおよびF) 未分化非小細胞癌。(A、C、E) ヘマトキシリン-エオシンおよび (B、D、F) パンケラチンAE1/AE3。

## まとめの回答

パンサイトケラチン染色は、腫瘍が形態学的に未分化である場合、癌の正確な診断を確定できます。

## サイトケラチン5または5/6は、肺の扁平上皮癌に対して高感度かつ特異的なマーカーか？

サイトケラチン5と6は関連するタンパク質で、サイトケラチン5/6 (CK5/6) 抗体は両方を検出しますが、CK5はより特異的です。CK5/6は、気管支や気管支鏡の基底（予備）細胞を、細胞質状および膜状に染色します。CK5/6抗体は、外科的サンプルの扁平上皮癌の診断において、それぞれ98%と82%のグローバル感度と特異性を示します。しかし、染色がびまん性の場合には、その感度は90%に低下し、特異性は97%に達します（2011年 Rekhtman 氏他、2012年 Whithaus氏他）。特に、CK5/6は、切除された扁平上皮癌の最大25%で限局性であったり、弱かったり、存在しなかったりすることがあり、腺癌の最大18%で発現することがあります（2011年Rekhtman氏他）。したがって、肺の扁平上皮癌の診断には、代わりにp40などのより高感度で特異的なマーカーを使用すべきです（2002Wang氏他、2014年Tatsumori氏他、2017年Walia氏他、2014年Jain氏他）。さらに、CK5/6は中皮細胞や中皮腫も染色します（2013年Ordonez氏、2006年King氏他）。したがって、胸膜生検では、中皮腫と扁平上皮癌の正確な診断を確定するために、CK5/6陽性は、カルレチニン、ウィルムス腫瘍タンパク質 (WT1)、扁平上皮マーカー (34βE12、p40) の陰性などの他の中皮染色によってサポートされるべきです。

## まとめの回答

CK5/6は十分な感度と特異性を持たないため、肺扁平上皮癌の診断に単独で用いるべきではありません。

## 肺腺癌と扁平上皮癌の鑑別にサイトケラチン7を使用すべきか？

サイトケラチン7 (CK7) は、誘導気道の気管支上皮、気管支上皮、I型およびII型肺細胞、クラブ（旧称クララ）細胞に発現しています。CK7は粘膜下の漿液腺も染色します。発現パターンは細胞質です。CK7は、ほとんどすべての肺の腺癌を90%から100%超の感度で染色します (Chu 氏他 2000) (図9-2A-C)。特に、粘液性変異体はより少ない数の症例 (50%~90%) で陽性を示しています。しかし、扁平上皮癌の3分の1超 (2019年 Vidarsdottir氏他) がCK7に対して陽性であるため、肺内の系統判別には特異性が低いとされています (図9-2D-F)。したがって、CK7は腺癌と肺扁平上皮癌との鑑別には推奨されません。さらに、CK7は、膵胆管、胃、卵巣、乳房などの他の器官系の腺癌にも見られるので、肺由来に特異的ではありません (2000年Chu氏他)。したがって、非小細胞癌を分類するためには、甲状腺転写因子-1 (TTF1) とp40を含む、より重要で完全なパネルが必要で、随時、ナプシンAなどの追加マーカーも必要です。サイトケラチンプロファイルは、前節で考察したように、低分化症例の治療に重要です。

## まとめの回答

CK7は肺腺癌と扁平上皮癌との鑑別に用いるべきではありません。



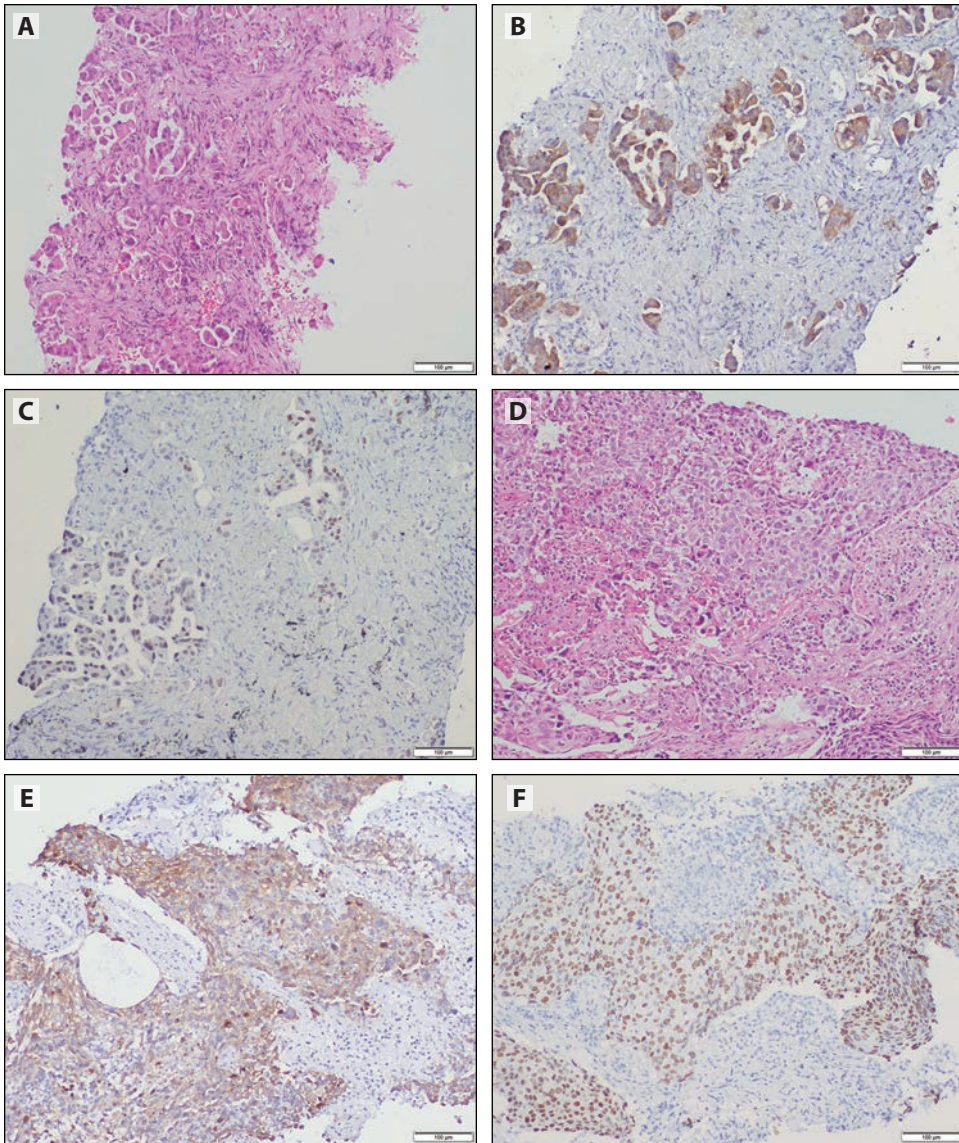


図9-2.サイトケラチン7 (CK7) は肺腺癌に特異的ではありません。(A、B、C) 腺癌および (D、E、F) 低分化扁平上皮癌。(AおよびD) ヘマトキシリン-エオシン、(BおよびE) CK7、(C)甲状腺転写因子-1 (TTF1)、および(F) p40。

### CK7はびまん性に陽性だが、TTF1およびp40は陰性である非小細胞癌は、「おそらく腺癌である」とみなすべきか？

CK7は、扁平上皮癌でも陽性になることがあるので、腺癌に特異的ではありません。したがって、非小細胞癌の再分類にはCK7の使用は推奨されません (Yatabe 氏他 2019)。このような癌は、他に指定されていない非小細胞癌とみなすべきです (NSCC、NOS)。

### まとめの回答

CK7単独では、肺腺癌の診断を確定するには不十分です。

**CK7は肺腺癌と中皮腫を鑑別するのに有用な染色体か？**

CK7は上皮性中皮腫にも強く発現している可能性があるため、腺癌と中皮腫の鑑別には有用ではありません(2001年Tot氏)。中皮腫の症例の約90%はCK7陽性です(2001年Tot)。CK7は、ほとんどの胸腺、前立腺、肝細胞、およびほとんどの結腸腺癌、明細胞腎細胞癌では特に認められません(2000年Chu氏他)(第16章を参照)。

**まとめの回答**

CK7は肺腺癌と悪性中皮腫を鑑別できません。

**小細胞肺癌の染色には、どのサイトケラチン抗体が好ましいか？**

CK7およびCK5/6は、小細胞肺癌(SCLC: small cell lung carcinoma)の診断においては有用な染色ではありません。CK7は、小細胞癌では陰性または局所的に陽性であり、S-CLCでは約半分しか染色されません(図9-3)(2000年Chu氏他)。小細胞および大細胞の神経内分泌癌を含む神経内分泌腫瘍では、34βE12のようなHMWサイトケラチンは陰性です(2001年Sturm氏他、2005年Zhang氏他、2000年Lyda氏およびWeiss氏)。

**まとめの回答**

SCLCを認識するのに使用するには、パンサイトケラチン抗体が好ましいです。

**肺癌の診断におけるCK20の有用性とは？**

サイトケラチン20(CK20)は正常な気管支上皮の5%未満でしか発現しません。浸潤性粘液性腺癌、コロイド腺癌、腸型腺癌、その他の粘液性の特徴を有する肺の腺癌は、

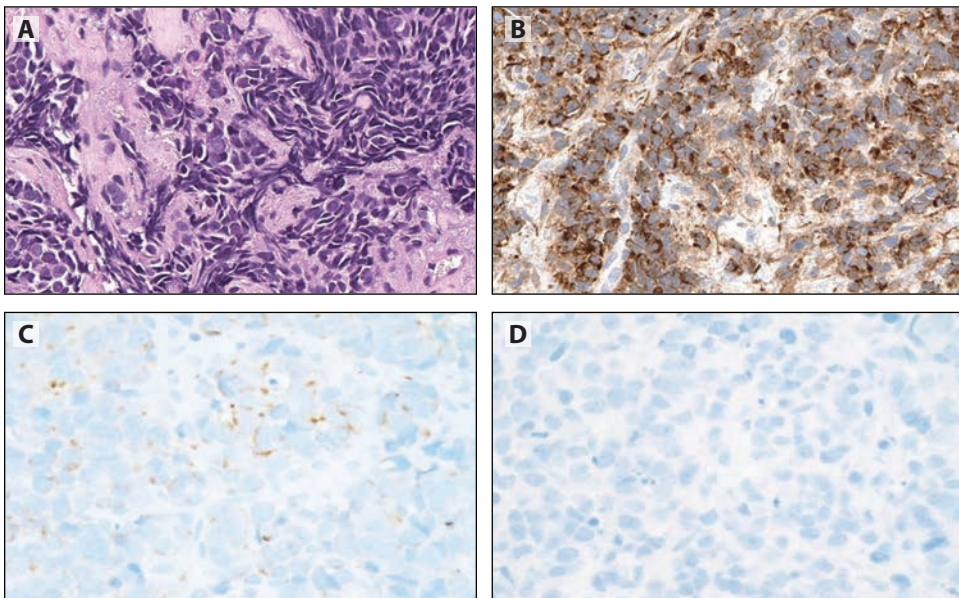


図9-3.小細胞癌は、広範囲のパンサイトケラチン抗体で最もよく染色されます。(A)ヘマトキシリン-エオジン、(B)AE1/AE3、(C)サイトケラチン7(CK7)、および(D)サイトケラチン5/6(CK5/6)。



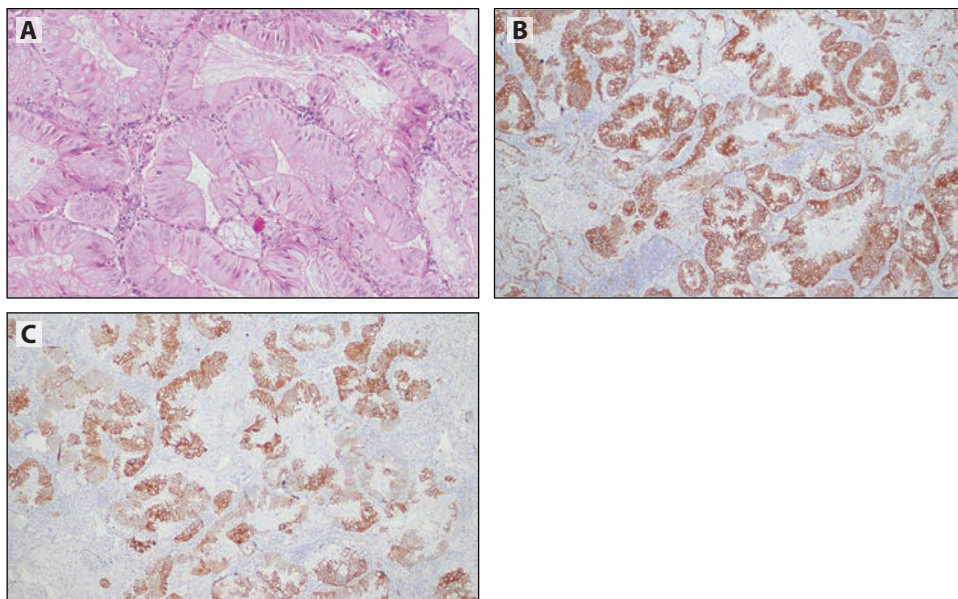


図9-4.肺浸潤性粘液性腺癌は、サイトケラチン7 (CK7) とサイトケラチン20 (CK20) を共発現することがあります。(A) ヘマトキシリン-エオシン、(B) CK7、および (C) CK20。

典型的にはCK7とともにCK20を共発現します (図9-4)。90%以上の症例で斑状に発現します。SCLCではCK20はほとんどが陰性であり、陽性となる症例はわずか約10%です (2000年Chu氏他)。これらの稀なCK20陽性SCLC症例においては、転移性メルケル細胞癌を除外するために、TTF1および神経フィラメントタンパク質などの他の免疫組織化学 (IHC: immunohistochemistry) を実施すべきです (2006年Bobos氏他)。

### まとめの回答

CK20が陽性であっても、肺原発の粘液性腺癌を除外することはできません。

### 中皮腫にはどのサイトケラチン抗体を使用すべきか？

AE1/AE3、CAM5.2、およびMNF116は、事実上すべての上皮性中皮腫およびほとんどの肉腫性中皮腫を同定するのに有用です (第17章も参照)。肉腫性中皮腫の約5%から10%は、広範囲のサイトケラチンに対して陰性です (2000年Attanoos氏他、2008年Klebe氏他)。上皮性中皮腫の75%~100%においてはCK5またはCK5/6が発現しているが、肉腫性中皮腫におけるCK5/6の感度が低いため、後者の診断におけるCK5/6有用性は限られます (2000年Cury氏他、2018年Husain氏他)。

### まとめの回答

パンサイトケラチンおよびCK5/6は、他の中皮腫マーカーと併せて、中皮腫の診断に有用です。

### 胸腺腫の診断におけるサイトケラチンの役割とは？

サイトケラチンは、B型胸腺腫をリンパ腫から、A型胸腺腫を紡錘細胞腫から区別するための縦隔病変の小生検において重要な役割を果たします (第18章を参照)。一般

に、パンサイトケラチンおよびCK19は皮質と髄質両方の上皮細胞で発現します。しかし、CK10およびCK14は成熟した髄質上皮細胞およびハッサル小体に限定されます。A型およびAB型胸腺腫は、CK20を除くすべての酸性ケラチンに対して一貫して陽性です。B型胸腺腫は、CK20を除いてパンサイトケラチン (AE1/AE3) に陽性です。CK20は稀な胸腺癌で発現します (2000年Kuo氏)。

### まとめの回答

パンサイトケラチンは、胸腺腫と他の縦隔病変との鑑別診断に非常に有用です。

### 結論

肺癌は上皮由来であるため、すべてのタイプのサイトケラチンを発現します。そのため、難易度の高い低分化腫瘍の場合には、上皮由来であることを確定するために広範なサイトケラチンのIHCが推奨されます。ただし、ほとんどのケラチンは非特異的であり、腫瘍組織を保存してさらなる分子検査を行うために、肺癌症例の小生検でルーチンに使用することは推奨されません (表9-2)。CK7は、肺癌の異なる亜群の区別や、肺腺癌と肺外への転移性癌との鑑別には有用ではない。HMWケラチンは扁平上皮癌により特異的に発現します。ただし、ごく一部の腺癌ではHMWサイトケラチンも発現します。小細胞癌は、パンサイトケラチンの特徴的な核周囲および点状のパターンを示しますが、びまん性の細胞質染色も認められる場合があります。SCLCは一般的にCK5/6、CK7、CK20に対して陰性です。肺癌の診断に適切に使用するために、サイトケラチンのパターンとプロファイリングを理解することが重要です。

表9-2.肺および胸膜新生物の診断に適したサイトケラチンの要約

腫瘍	ケラチン
低分化悪性腫瘍	広範囲のサイトケラチン//パンサイトケラチン
扁平上皮癌	CK5、CK5/6、34βE12
腺癌	CK7、テキストを参照
浸潤性粘液性腺癌	CK7、CK20
小細胞癌	広範囲のサイトケラチン//パンサイトケラチン
上皮性中皮腫	CK5またはCK5/6
肉腫性中皮腫	広範囲のサイトケラチン//パンサイトケラチン

### 参考文献

Attanoos RL, Dojcinov SD, Webb R, et al. Antimesothelial markers in sarcomatoid mesothelioma and other spindle cell neoplasms. *Histopathology*. 2000;37(3):224-231.

Bobos M, Hytiroglou P, Kostopoulous I, et al. Immunohistochemical distinction between Merkel cell carcinoma and small cell carcinoma of the lung. *Am J Dermatopathol*. 2006;28(2):99-104.

Chu P, Wu E, Weiss LM. Cytokeratin 7 and cytokeratin 20 expression in epithelial neoplasms: a survey of 435 cases. *Mod Pathol*. 2000;13(9):962-972.

Cury PM, Butcher DN, Fisher C, et al. Value of the mesothelium-associated antibodies thrombomodulin, cytokeratin 5/6, calretinin, and CD44H in distinguishing epithelioid mesothelioma from adenocarcinoma metastatic to the pleura. *Mod Pathol*. 2000;13(2):107-112.

Eichner R, Rew P, Engel A, et al. Human epidermal keratin filaments: studies on their structure and assembly. *Ann N Y Acad Sci*. 1985;455:381-402.

Husain AN, Colby TV, Ordonez NG, et al. Guidelines for pathologic diagnosis of malignant mesothelioma 2017 update of the consensus statement from the

- International Mesothelioma Interest Group. *Arch Pathol Lab Med.* 2018;142(1):89-108.
- Jain D, Mathur SR, Guleria R, et al. Utility and pattern of positivity of p40 in the diagnosis of squamous cell carcinoma of the lung by cytology: the first study on fine needle aspiration smears. *Cytopathology.* 2014;25(5):330-335.
- King JE, Thatcher N, Pickering CA, et al. Sensitivity and specificity of immunohistochemical markers used in the diagnosis of epithelioid mesothelioma: a detailed systematic analysis using published data. *Histopathology.* 2006;48(3):223-232.
- Klebe S, Mahar A, Henderson DW, et al. Malignant mesothelioma with heterologous elements: clinicopathological correlation of 27 cases and literature review. *Mod Pathol.* 2008;21(9):1084-1094.
- Kuo Tt. Cytokeratin profiles of the thymus and thymomas: histogenetic correlations and proposal for a histological classification of thymomas. *Histopathology.* 2000;26(5):403-414.
- Lyda MH, Weiss LM. Immunoreactivity for epithelial and neuroendocrine antibodies are useful in the differential diagnosis of lung carcinomas. *Hum Pathol.* 2000;31(8):980-987.
- Ordonez NG. Broad-spectrum immunohistochemical epithelial markers: a review. *Hum Pathol.* 2013;44(7):1195-1215.
- Rekhtman N, Ang DC, Sima CS, et al. Immunohistochemical algorithm for differentiation of lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma based on large series of whole-tissue sections with validation in small specimens. *Mod Pathol.* 2011;24(10):1348-1359.
- Sturm N, Lantuejoul S, Laverriere MH, et al. Thyroid transcription factor 1 and cytokeratins 1, 5, 10, 14 (34betaE12) expression in basaloid and large-cell neuroendocrine carcinomas of the lung. *Hum Pathol.* 2001;32(9):918-925.
- Tan D, Zander DS. Immunohistochemistry for assessment of pulmonary and pleural neoplasms: a review and update. *Int J Clin Exp Pathol.* 2008;1(1):19-31.
- Tatsumori T, Tsuta K, Msai K, et al. p40 is the best marker for diagnosis pulmonary squamous cell carcinoma: comparison with p63, cytokeratin 5/6, desmocollin-3, and sox2. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2014;22(5):377-382.
- Thunnissen E, Borczuk AC, Flieder DB, et al. The use of immunohistochemistry improves the diagnosis of small cell lung cancer and its differential diagnosis. An international reproducibility study in a demanding set of cases. *J Thorac Oncol.* 2017;12(2):334-346.
- Tot T. The value of cytokeratins 20 and 7 in discriminating metastatic adenocarcinoma from pleural mesotheliomas. *Cancer.* 2001;92(10):2727-2732.
- Vidarsdottir H, Tran L, Nodin B, et al. Immunohistochemical profiles in primary lung cancers and epithelial pulmonary metastases. *Hum Pathol.* 2019;84:221-230.
- Walia R, Jain D, Madan K, et al. p40 & thyroid transcription factor-1 immunohistochemistry: a useful panel to characterize non-small cell lung carcinoma-not otherwise specified (NSCLC-NOS) category. *Indian J Med Res.* 2017;146(1):42-48.
- Wang BY, Gil J, Kaufman D, et al. P63 in pulmonary epithelium, pulmonary squamous neoplasms, and other pulmonary tumors. *Hum Pathol.* 2002;33(9):921-926.
- Whithaus K, Fukuoka J, Prihoda TJ, et al. Evaluation of napsin A, cytokeratin 5/6, p63, and thyroid transcription factor 1 in adenocarcinoma versus squamous cell carcinoma of the lung. *Arch Pathol Lab Med.* 2012;136(2):155-162.
- Winter H, Schweizer J. Carcinoma-specific keratin polypeptide patterns in keratinizing epithelia of rodents: independence of species- and tissue-specific variations. *Carcinogenesis.* 1981;2(7):613-621.
- Winter H, Schweizer J, Goerttler K. Keratins as markers of malignancy in mouse epidermal tumors. *Carcinogenesis.* 1980;1(5):391-398.
- Yatabe Y, Dacic S, Borczuk AC, et al. Best practice recommendations for diagnostic immunohistochemistry in lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2019;14(3):377-407.
- Zhang H, Liu J, Cagle PT, et al. Distinction of pulmonary small cell carcinoma from poorly differentiated squamous cell carcinoma: an immunohistochemical approach. *Mod Pathol.* 2005;18(1):111-118.

# 神経内分泌マーカー

# 10

執筆者：Mary Beth Beasley、Mauro Papotti、Alain C. Borczuk

## はじめに

肺の原発性神経内分泌腫瘍 (NEN: Neuroendocrine Neoplasms) には、低悪性度と中悪性度の定型カルチノイド (TC: Typical Carcinoid) および非定型カルチノイド (AC: Atypical Carcinoid)、ならびに高悪性度の神経内分泌癌 (NECs: Neuroendocrine Carcinomas)、大細胞神経内分泌癌 (LCNEC: Large Cell Neuroendocrine Carcinoma)、および小細胞肺癌 (SCLC: Small Cell Lung Carcinoma) があります (2015年aTravis氏他)。精巣の核タンパク (NUT: Nuclear Protein in Testis) 中線癌 (2016年Stathis氏他)、原始神経外胚葉性腫瘍 (2012年Weissferdt氏およびMoran氏、2014年Marino-Enriquez氏およびFletcher氏)、および線維形成性小円形細胞腫瘍 (1995年Parkash氏他) などの神経内分泌 (NE: Neuroendocrine) 分化を示す比較的稀な腫瘍も肺に発生することがあります (稀な腫瘍に対する免疫マーカーについては第14章と第15章で説明します)。

クロモグラニンA、シナプトフィジン、神経細胞接着分子1 (NCAM1: Neural Cell Adhesion Molecule 1、CD56としても知られる) を含む一連のNEマーカーは、NENの同定のための最も一般的に推奨されるマーカーです (2015年a、2015bTravis氏他、2019年Yatabe氏他)。最近では、インスリノーマ関連タンパク質1 (INSM1: Insulinoma-associated Protein 1) は、NENの全スペクトルを標識するための高い感度と特異性を示しています (2019年Mukhopadhyay氏他、2017年Rooper氏他、2015年Rosenbaum氏他)。次のセクションで説明するように、追加のマーカーも有用である可能性があります。陽性の免疫組織化学 (IHC: Immunohistochemistry) 染色を構成するものに関しては、いずれのNEマーカーにも明確なカットオフ値は存在せず、形態学的特徴、サンプルの種類、陽性反応の程度などを考慮して解釈すべきです。同様に、1つのマーカーを使用すべきか複数のマーカーを使用すべきかについての合意は得られていません。一般に、NEの形態学的特徴 (オルガノイドのネスティング、ロゼットのような構造、柵状パターン) とこれらのNEマーカーのいずれかに対する陽性染色の組み合わせは、NENの診断を示唆するものです。陽性反応の程度および/または強度は、組織の亜群によって異なり、SCLCの約5%~10%は、クロモグラニン、シナプトフィジン、CD56に対して陰性です。逆に、明らかなNEの形態を持たない非小細胞肺癌 (NSCLC: Non-Small Cell Lung Carcinomas)、すなわち腺癌ま



たは扁平上皮癌の約10%から20%は、1つ以上のマーカーに対して陽性染色を示します（2015年aTravis氏他、2019年Yatabe氏他）。このような腫瘍は「神経内分泌分化を伴う非小細胞癌」と呼ばれてきましたが、研究では治療、転帰、予後に関してこの所見に有意差は認められないことが分かっており、このような腫瘍はNSCLCとして管理分類されるべきです（2011年Travis氏他）。時折、腫瘍がNE分化の形態学的特徴を有するけれども、クロモグラニン、シナプトフィジン、またはCD56の発現を欠く場合があり、そのような腫瘍は「NE形態を有する非小細胞癌」と呼ばれます（2015年 aTravis氏他）。

## 神経内分泌腫瘍の分類における神経内分泌形態を裏付けるためにどのようなIHCマーカーが有用か？

### 一般的に使用される神経内分泌免疫染色

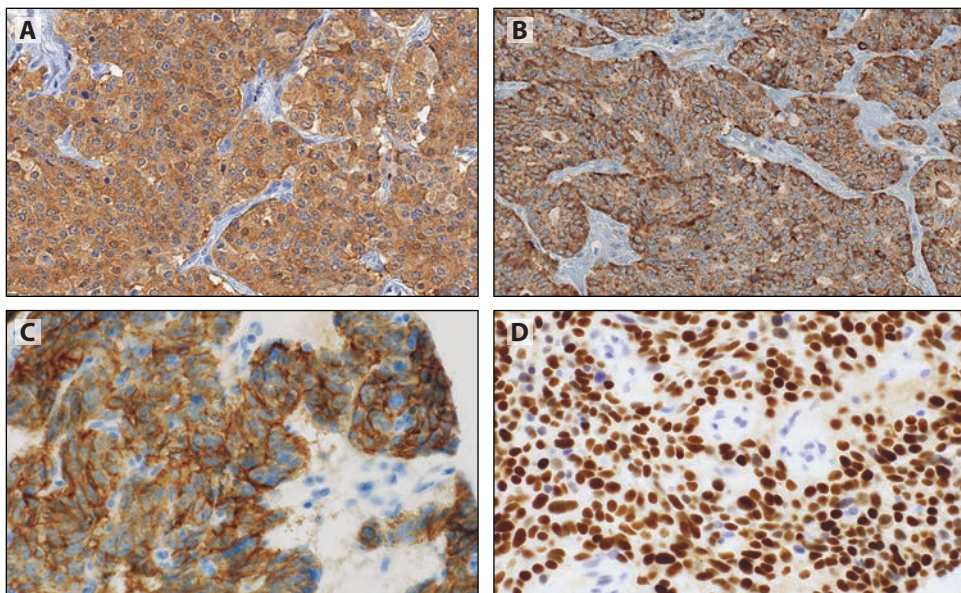
一般的に使用されるNE免疫染色については、[図10-1](#)および[10-2](#)を参照してください。

#### クロモグラニンAとシナプトフィジン

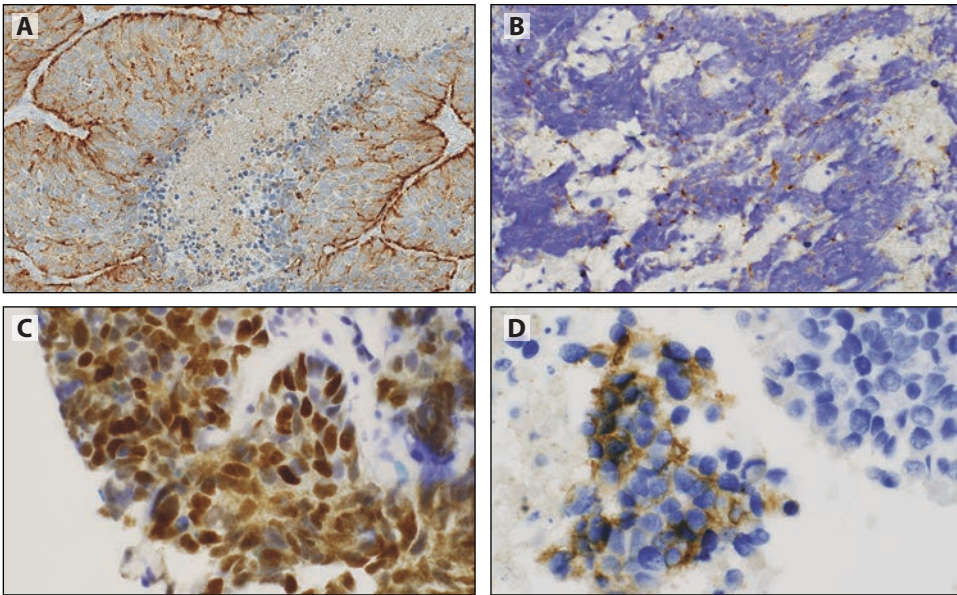
クロモグラニンAとシナプトフィジンはNE分化の真のマーカーです。クロモグラニンAは密なコア顆粒に含まれ、シナプトフィジンはシナプス小胞に存在します。両マーカーとも細胞質に染色されます（1995年Loy氏他）。クロモグラニンAはTCの90%~100%、ACLCNECの60%~70%で陽性ですが、SCLCでは約25%に過ぎません。シナプトフィジンは、悪性度にかかわらず肺NENの約70%~80%で陽性ですが、高悪性度のNECでは一般に弱く、びまん性ではありません（2019年Yatabe氏他）。

#### CD56 (NCAM)

CD56は、特に高悪性度のNECにおいてクロモグラニンやシナプトフィジンよりも感度が高いけれども、クロモグラニン、シナプトフィジン、INSM1よりもNEの分化に対する特



**図10-1.**カルチノイド腫瘍における神経内分泌マーカー。(A) シナプトフィジン、(B) クロモグラニン、(C) CD56/NCAMにはびまん性の強い細胞質の免疫反応が見られます。(D) インスリノーム関連タンパク質1 (INSM1) には強いびまん性の核染色が見られます。



**図10-2.**小細胞癌における神経内分泌マーカー。小細胞癌における神経内分泌マーカーに対する免疫反応性は、カルチノイド腫瘍よりも弱く、均一でない場合があります。(A) クロモグラニンは斑状で弱～中程度です。(B) シナプトフィジンは識別できないほどに弱く、びまん性というよりは「ドット状および縁状」に認められます。(C) インスリノーマ関連タンパク質1 (INSM1) は不規則だが中程度の核染色を示します。(D) CD56の細胞質および膜染色。

異性は低いです(2017年Rooper氏他、2017年Pelosi氏他、1998年Lantuejoul氏他)。陽性染色は一般的には膜状です。CD56は、神経細胞、グリア、さまざまな造血細胞(ナチュラルキラー細胞、 $\gamma$   $\delta$ -T細胞、活性化CD8+T細胞、樹状細胞)、骨格筋など、さまざまな正常細胞に発現している可能性があります。さらに、CD56は、NSCLCの最大30%に加えて、一部の間葉系腫瘍、多発性骨髄腫、肉腫、一部の上皮腫でも発現しています(2000年Lantuejoul氏他、2008年Agaimy氏および Wunsch氏、2006年Olsen氏他)。そのため、CD56陽性は、上皮の分化やNEの形態学的特徴との関連で解釈されるべきです。

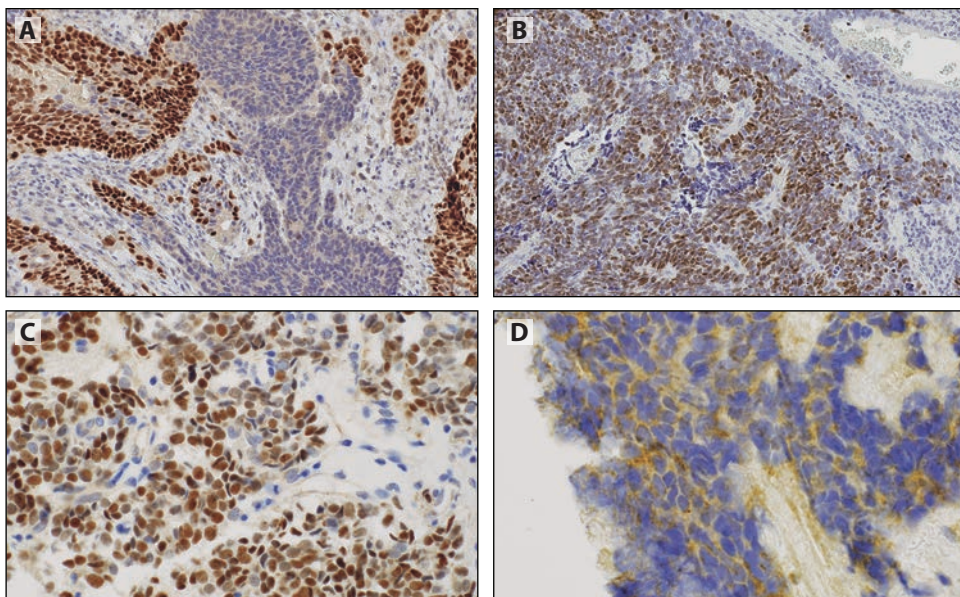
### INSM1

INSM1は、一般的にNENの全範囲に対して高感度かつ特異的なマーカーであることが示されています。INSM1がクロモグラニン、シナプトフィジン、CD56、またはそれらの組み合わせよりも感度や特異性が高いか低いかについては、さまざまな研究結果が示されています(2020年Kriegsmann氏他)。これまでのところ、INSM1は、特にクロモグラニンなどのマーカーが陰性である可能性があるSCLCの設定では、一貫して信頼性の高いマーカーであることが証明されており、核染色によって解釈がより容易になる可能性があります。さらに、多くの腫瘍型でCD56が発現していることを考えると、INSM1はCD56よりも特異的である可能性があります(2019年Mukhopadhyay氏他、2019年Nakra氏他、2017年Rooper氏他、2015年Rosenbaum氏他、2019年Roy氏他)。

### その他の神経内分泌マーカー

ヒトachaete-scuteホモログ1 (hASH1: Human achaete-scute homolog-1)は、NE分化の胚性核決定因子であり、したがってNENに特異性が高いことから、NE細胞の系統マーカーと考えられています。カルチノイド腫瘍ではhASH1が消失するか、発現が不良であ





**図10-3.**神経内分泌腫瘍における他のマーカー。(A) p40の核免疫反応により、扁平上皮癌と合併した小細胞癌の扁平上皮成分が強調されています。(B) ヒトachaete-scuteホモログ1 (hASH1) が小細胞癌で核免疫反応性を示しています。(C) Orthopediaホメオボックスタンパク質 (OTP) は、カルチノイド腫瘍で特異的な核免疫反応を示しますが、(D) 小細胞癌は、非特異的な細胞質反応しか示しません。

ることが多いため、このマーカーの全体的な感度は低いですが、高悪性度腫瘍、特にSCLCでは維持されます(2012年Miki氏他、2016年Ye氏他)([図10-3](#))。

Orthopediaホメオボックスタンパク質(OTP: Orthopedia homeobox protein)は、視床下部のNEシステムを発達させる役割を果たしていると考えられています。細胞質の染色は一般に非特異的ですが、核の染色はNEの分化に高度に特異的であると考えられています(2016年Nonaka氏他)。OTPはカルチノイド腫瘍で優先的に発現し、SCLCではまれにしか発現しません(2018年Hanley氏他、2019年Viswanathan氏他)。OTP発現は、肺カルチノイドで最も広範に研究されている一方で、前立腺および卵巣を含む他の部位のNE腫瘍でも報告されています(2019年Roy氏他)、データは矛盾しており、他の研究では肺NE腫瘍のみでOTPの陽性染色が示されています(2016年Nonaka氏他)([図10-3](#))。

Leu7 (CD57)は、NEマーカーとしてある程度有用ですが、感度が低く、NEの分化に特異的ではありません。CD56と同様に、Leu7はさまざまな造血細胞で陽性であり、さらにさまざまな神経鞘腫瘍、紡錘細胞胸腺腫、滑膜肉腫、さらには一部の甲状腺乳頭癌で陽性です(2003年Uherova氏他、1993年Miettinen氏)。

ニューロン特異的エノラーゼ(NSE: Neuron-specific Enolase)は高感度ですが特異性が非常に低く、そのため肺のNECを評価するマーカーとしては一般的に推奨されません(2015年aTravis氏他)。

### まとめの回答

クロモグラニン、シナプトフィジン、CD56、INSM1は、NEの形態を裏付ける有用なNEマーカーです。

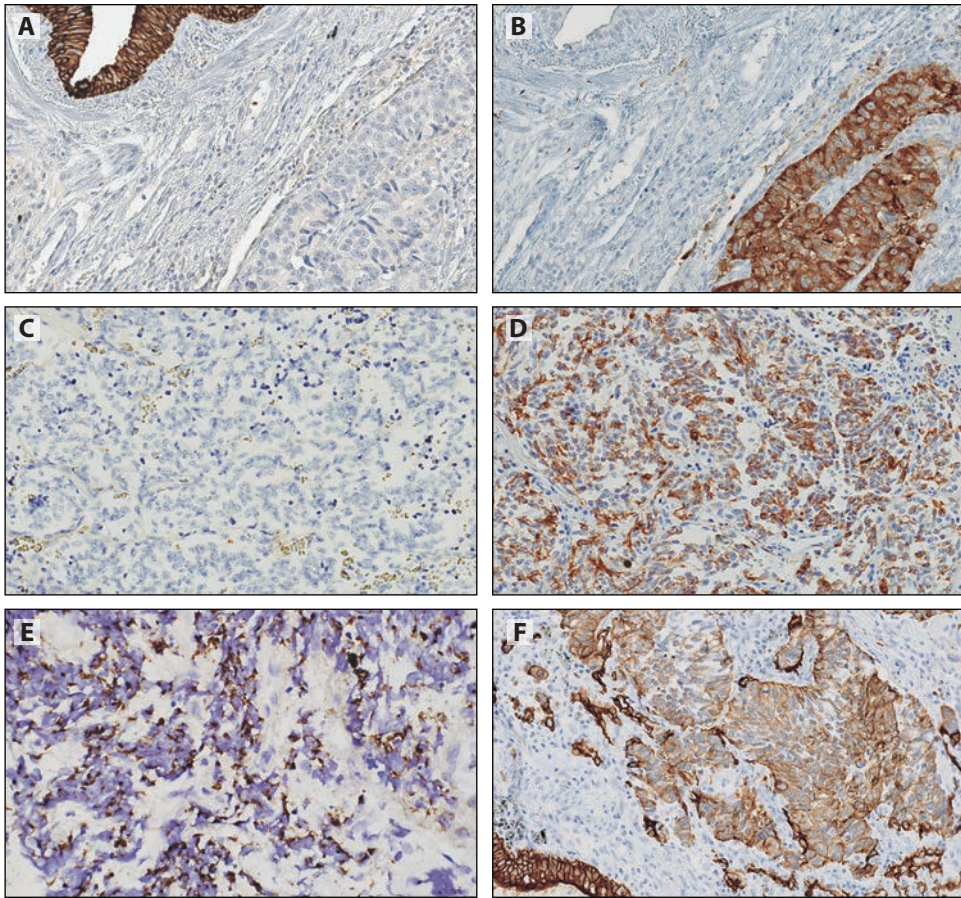


図10-4.神経内分泌腫瘍におけるサイトケラチン。(A および B) 高分子サイトケラチン(AE1/AE3)は、この大細胞神経内分泌癌では陰性、気道上皮は陽性である一方、(B) シナプトフィジンは腫瘍を強調しています。(C および D) このカルチノイド腫瘍は、サイトケラチンカクテルAE1/AE3に対して陰性です (C)。診断上必要であれば、CAM5.2を試みることができ、AE1/AE3陰性の腫瘍のサブセットは、(D) に示すようにCAM5.2陽性です。小細胞癌におけるサイトケラチン染色は、(E) に見られるように、点状およびドット状になることがあります、(F) に見られるように、よりびまん性の細胞質/膜状の染色も見られます。

**NENの鑑別診断における腫瘍の分類にはどの非神経内分泌マーカーが役立つか？**

AE1/AE3などの幅広いサイトケラチンカクテルおよび低分子ケラチンCAM5.2 (サイトケラチン8 (CK8: Cytokeratin 8)とサイトケラチン7 (CK7: Cytokeratin 7)の一部)は、悪性度にかかわらずほとんどのNENを染色します (図10-4)。NENの約10%は、特にAE1/AE3に関しては陰性であると報告されていますが(2010年Rekhtman氏)、これらの症例ではCAM5.2など他のサイトケラチンが染色される可能性があります。SCLCでは、サイトケラチン、特にCAM5.2の染色が「縁状およびドット状」タイプのパターンを示すことが多いです(2015年aTravis氏他)。CK7は肺のさまざまなNENで陽性となる可能性があります、CK20の陽性染色はメルケル細胞癌の可能性を高める可能性があります(2001年Cheuk氏他)。CK34βE12などの高分子サイトケラチンは、一般的に肺NENでは陰性であり、陰性のNEマーカーが存在する場合の陽性染色は、通常、高悪性度NECと形態が酷似している可能性のある、基底細胞扁平上皮癌を示します(2001年、2003年Sturm氏他)。p40またはp63のいずれかによるびまん性の陽性染色は、このシ



ナリオでは扁平上皮癌の診断を裏付けます。高悪性度NECのごく一部はp63が局所的に染色され、稀にp40がびまん性に染色されない場合があります(2016年Rekhtman氏他) (図10-4)。

### まとめの回答

NENsでは、高分子ケラチンではなくパンケラチンと低分子ケラチンが陽性となる可能性があります。

### NEマーカーはどのような場合に非小細胞癌に適用すべきか？

NE IHCマーカーは、NE分化の形態学的特徴が認められる場合にのみ用いるべきです。前述したように、NEの形態が認められなくても、NEマーカーが陽性となるNSCLCが一定の割合で存在します(NE分化を伴う非小細胞癌) (図10-5)。このように、NEの形態が認められない場合にNEマーカーが陽性であることの臨床的妥当性を裏付けるデータがないため、NEの形態が認められない腫瘍に対してNEマーカーを実施することは一般的に推奨されません。また、NEの形態が認められる腫瘍であっても、クロモグラニン、シナプトフィジン、またはCD56の染色がないものがある(NEの形態を示す非小細胞癌)(2015年a、2015年b Travis氏他、2019年Yatabe氏他、2010年Rekhtman氏、2003年Zacharias氏他)。INSM1の追加は、これらの腫瘍の少なくとも一部においてこの問題を解決する可能性があります、困難な症例への追加にはさらなる研究が必要です(図10-6)。

生検や細胞診の標本が小規模の場合、NEの形態学的特徴を見極めるにはより困難であり、小規模の生検でLCNECの確定診断を下すことは特に問題となり得ます。

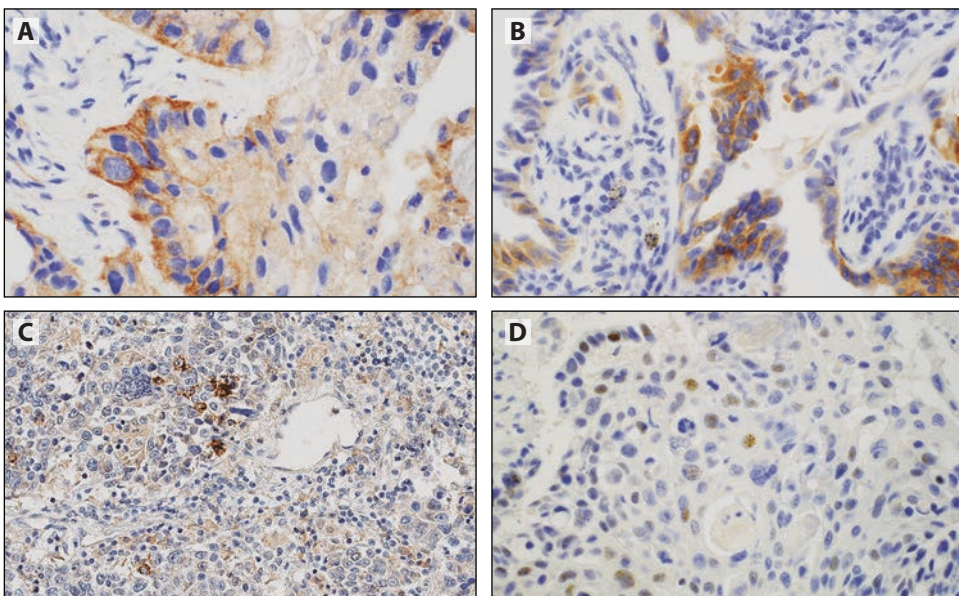


図10-5.非神経内分泌性の非小細胞癌(NE分化を伴う非小細胞癌)における神経内分泌マーカー。(A) 扁平上皮癌は、CD56に対して中等度かつ多病巣性の免疫反応を示します。(B) 多巣性のシナプトフィジン反応を示す腺癌。(C) 大細胞癌に限局性のクロモグラニン反応が見られます。(D) インスリノーム関連タンパク質1 (INSM1)は、扁平上皮癌において弱い限局性の染色を示します。

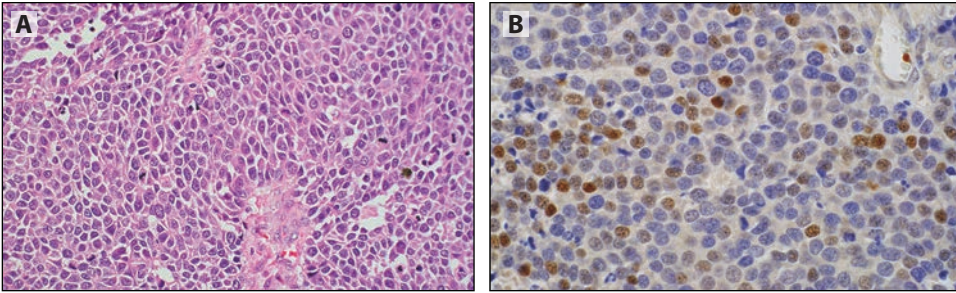


図10-6.神経内分泌形態を伴う非小細胞癌(A) 腫瘍は以前、CD56、クロモグラニン、シナプトフィジンに対する染色が陰性で、その後、神経内分泌形態を伴う非小細胞癌と診断されました。最近では、(B) インスリノーム関連タンパク質1 (INSM1)の使用により、大細胞神経内分泌癌として再分類できるようになりました。

現在、NSCLCにおいてNEマーカーの陽性染色が検出され、NEの形態が認められる場合には、「非小細胞癌 (NSCC)、LCNECを支持」と診断するように推奨されています (2015年a Travis氏他)。腫瘍がNE形態を欠く場合、NEの陽性染色に関するコメントを添えて、NSCCの診断が推奨されます。ほとんどの肺癌が小規模な生検または細胞診で診断される事実からすると、治療戦略が他のNSCLCと比較して異なる可能性があることから、小生検でLCNECを正確に同定することの困難さが問題になります (2015年a Travis氏他)。LCNECの小生検では明らかなNEの形態が認められないことがあります。つまり、その存在は生検のサイズと相関することが示されています。Derksらの研究 (2019年)では、NEマーカー2個または3個 (クロモグラニン、シナプトフィジン、CD56) による陽性染色の感度は80%、特異度は99%でした。この点についてはさらなる検証が必要であり、アルゴリズムにINSM1を加えた場合の影響についても同様に研究が必要です。

カルチノイド腫瘍の診断は、一般的に小生検では簡単です。ただし、有糸分裂像および壊死を識別するTCやACが存在しない場合があり、そのため切除標本では優先的に亜型判定を行うことが望ましいとされています。増殖マーカーKi-67の役割については第11章で詳しく説明しますが、現在のところ、Ki-67はTCとACの識別には関与していません。しかし、Ki-67は小生検において、特に形態が最適ではない場合に、高悪性度のNECとカルチノイド腫瘍を識別するのに有用です (2015年a Travis氏他、2014年、2017年Pelosi氏他)。

## まとめの回答

NEマーカーは、NE分化の形態学的特徴が認められる場合にのみ用いるべきです。NEの形態を評価するのが困難な少量のサンプルでは、2つ以上のマーカーが陽性であれば、より高い特異性が得られる可能性があります。

## 結論

NEの形態を示す腫瘍では、クロモグラニン、シナプトフィジン、CD56、およびINSM1の併用が、NEの分化を確認するための有用なIHCマーカーです。高悪性度の腫瘍では、マーカーがより局所的であったり、欠如していたりするため、複数のマーカーの併用が必要となる場合があります。NEの形態を評価するのが困難な少量のサンプルでは、2つの陽性マーカーの方が単一のマーカーよりも特異性が高い場合があります。難しい症例では、高分子サイトケラチン、低分子ケラチン、p63/p40の併用が非NEの形態学的類似物との鑑別診断に役立つ可能性があります。

## 参考文献

- Agaimy A, Wunsch PH. Distribution of neural cell adhesion molecule (NCAM/CD56) in gastrointestinal stromal tumors and their intra-abdominal mesenchymal mimics. *J Clin Pathol*. 2008;61(4):499-503.
- Cheuk W, Kwan MY, Suster S, et al. Immunostaining for thyroid transcription factor 1 and cytokeratin 20 aids the distinction of small cell carcinoma from Merkel cell carcinoma, but not pulmonary from extrapulmonary small cell carcinomas. *Arch Pathol Lab Med*. 2001;125(2):228-231.
- Derks JL, Dingemans AC, van Suylen RJ, et al. IS the sum of positive neuroendocrine immunohistochemical stains useful for diagnosis of large cell neuroendocrine carcinoma (LCNEC) on biopsy specimens? *Histopathology*. 2019;74(4):555-566.
- Hanley KZ, Dureau ZJ, Cohen C, et al. Orthopedia homeobox is preferentially expressed in typical carcinoids of the lung. *Cancer Cytopathol*. 2018;126(4):236-242.
- Kriegsmann K, Zgorzelski C, Kazdal D, et al. Insulinoma-associated protein 1 (INSM1) in thoracic tumors is less sensitive but more specific compared with synaptophysin, chromogranin A, and CD56. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2020;28(3):237-242.
- Lantuejoul S, Laverriere MH, Strum N, et al. NCAM (neural cell adhesion molecules) expression in malignant mesotheliomas. *Hum Pathol*. 2000;31(4):415-421.
- Lantuejoul S, Moro D, Michalides RJ, et al. Neural cell adhesion molecules (NCAM) and NCAM-PSA expression in neuroendocrine lung tumors. *Am J Surg Pathol*. 1998;22(10):1267-1276.
- Loy TS, Darkow GV, Quesenberry JT. Immunostaining in the diagnosis of pulmonary neuroendocrine carcinomas. An immunohistochemical study with ultrastructural correlations. *Am J Surg Pathol*. 1995;19(2):173-182.
- Marino-Enriquez A, Fletcher CD. Round cell sarcomas—biologically important refinements in subclassification. *Int J Biochem Cell Biol*. 2014;53:493-504.
- Miettinen M. Immunohistochemistry in tumour diagnosis. *Ann Med*. 1993;25(3):221-233.
- Miki M, Ball DW, Linnoila RI. Insights into the achaete-scute homolog-1 gene (hASH1) in normal and neoplastic human lung. *Lung Cancer*. 2012;75(1):58-65.
- Mukhopadhyay S, Dermawan JK, Lanigan CP, et al. Insulinoma-associated protein 1 (INSM1) is a sensitive and highly specific marker of neuroendocrine differentiation in primary lung neoplasms: An immunohistochemical study of 345 cases, including 292 whole-tissue sections. *Mod Pathol*. 2019;32(1):100-109.
- Nakra T, Nambirajan A, Guleria P, et al. Insulinoma-associated protein 1 is a robust nuclear immunostain for the diagnosis of small cell lung carcinoma in cytology smears. *Cancer Cytopathol*. 2019;127(8):539-548.
- Nonaka D, Papaxoinis G, Mansoor W. Diagnostic utility of orthopedia homeobox (OTP) in pulmonary carcinoid tumors. *Am J Surg Pathol*. 2016;40(6):738-744.
- Olsen SH, Thomas DG, Lucas DR. Cluster analysis of immunohistochemical profiles in synovial sarcoma, malignant peripheral nerve sheath tumor, and Ewing sarcoma. *Mod Pathol*. 2006;19(5):659-668.
- Parkash V, Gerald WL, Parma A, et al. Desmoplastic small round cell tumor of the pleura. *Am J Surg Pathol*. 1995;19(6):659-665.
- Pelosi G, Rindi G, Travis WD, et al. Ki-67 antigen in lung neuroendocrine tumors: unraveling a role in clinical practice. *J Thorac Oncol*. 2014;9(3):273-284.
- Pelosi G, Sonzogni A, Harari S, et al. Classification of pulmonary neuroendocrine tumors: new insights. *Transl Lung Cancer Res*. 2017;6(5):513-529.
- Rekhtman N. Neuroendocrine tumors of the lung: an update. *Arch Pathol Lab Med*. 2010;134(11):1628-1638.
- Rekhtman N, Pietanza MC, Hellmann MD, et al. Next-generation sequencing of pulmonary large cell neuroendocrine carcinoma reveals small cell carcinoma-like non-small cell carcinoma-like subsets. *Clin Cancer Res*. 2016;22(14):3618-3629.
- Rooper LM, Sharma R, Li QK, et al. INSM1 demonstrates superior performance to the individual combined use of synaptophysin, chromogranin and CD56 for diagnosing neuroendocrine tumors of the thoracic cavity. *Am J Surg Pathol*. 2017;41(11):1561-1569.
- Rosenbaum JN, Guo Z, Baus RM, et al. INSM1: a novel immunohistochemical and molecular marker for neuroendocrine and neuroepithelial neoplasms. *Am J Clin Pathol*. 2015;144(4):579-591.
- Roy M, Buehler DG, Zhang R, et al. Expression of insulinoma-associated protein 1 (INSM1) and orthopedia homeobox (OTP) in tumors with neuroendocrine differentiation at rate sites. *Endocr Pathol*. 2019;30(1):35-42.
- Stathis A, Zucca E, Bekradda M, et al. Clinical response of carcinomas harboring the BRD4-NUT oncoprotein to the targeted bromodomain inhibitor OTX015/MK-8628. *Cancer Discov*. 2016;6(5):492-500.
- Sturm N, Lantuejoul S, Laverriere MH, et al. Thyroid transcription factor 1 and cytokeratins 1, 5, 10, 14 (34betaE12) expression in basaloid and large-cell neuroendocrine carcinomas of the lung. *Hum Pathol*. 2001;32(9):918-925.
- Sturm N, Rossi G, Lantuejoul S, et al. 34BetaE12 expression along the whole spectrum of neuroendocrine proliferations of the lung, from neuroendocrine cell



- hyperplasia to small cell carcinoma. *Histopathology*. 2003;42(2):156-166.
- Travis WD, Brambilla E, Burke AP, et al. *WHO Classification of the Lung, Pleura, Thymus and Heart*. 4th ed. International Agency for Research on Cancer (IARC) Press; 2015. (a)
- Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG, et al. The 2015 World Health Organization classification of lung tumors: impact of genetic, clinical and radiologic advances since the 2004 classification. *J Thorac Oncol*. 2015;10(9):1243-1260. (b)
- Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al. International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol*. 2011;6(2):244-285.
- Uherova P, Valdez R, Ross CW, et al. Nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma. An immunophenotypic reappraisal based on a single-institution experience. *Am J Clin Pathol*. 2003;119(2):192-198.
- Viswanathan K, Borczuk AC, Siddiqui MT. Orthopedia homeobox protein (OPT) is a sensitive and specific marker for primary pulmonary carcinoid tumors in cytologic and surgical specimens. *J Am Soc Cytopathol*. 2019;8(1):39-46.
- Weissferdt A, Moran CA. Primary pulmonary primitive neuroectodermal tumor (PNET): a clinicopathological and immunohistochemical study of six cases. *Lung*. 2012;190(6):677-683.
- Yatabe Y, Dacic S, Borczuk AC, et al. Best practices recommendations for diagnostic immunohistochemistry in lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2019;14(3):377-407.
- Ye B, Cappel J, Findeis-Hosey J, et al. hASH1 is a specific immunohistochemical marker for lung neuroendocrine tumors. *Hum Pathol*. 2016;48:142-147.
- Zacharias J, Nicholson AG, Ladas GP, et al. Large cell neuroendocrine carcinoma and large cell carcinomas with neuroendocrine morphology of the lung: prognosis after complete resection and systematic nodal dissection. *Ann Thorac Surg*. 2003;75(2):348-352.





## 増殖マーカー

執筆者：Fernando Lopez-Rios、Masayuki Noguchi、Wendy A. Cooper

### はじめに

Ki-67、増殖細胞核抗原 (PCNA: Proliferating Cell Nuclear Antigen)、トポイソメラーゼ、MCM、上皮細胞形質転換2 (ECT2: Epithelial Cell Transforming 2) など、増殖に関連するマーカーや細胞周期を調節するマーカーは数多く存在します。中でも、Ki-67に対する免疫組織化学的染色は、腫瘍の増殖活性を推定する方法として広く用いられています。Ki-67は、ヒトの第10染色体上に位置するMKI67遺伝子によりコードされるDNA結合タンパク質です。Ki-67は、細胞周期のすべての活性相で発現しますが、G<sub>0</sub>では発現しません (2016年Chiriac氏、2019年a Rekhtman氏他)。

### 増殖マーカーはどのような場合に診断に用いるべきか？

Ki-67増殖率の評価は、高度に増殖した腫瘍の確認に役立ちますが、診断基準の評価にKi-67を必要とする胸部原発腫瘍はありません。肺神経内分泌腫瘍の分類および悪性度評価には有糸分裂数の評価が必要ですが、これは、特に小さな破碎生検や最適ではない細胞診標本では評価が困難な場合があります。このような場合、カルチノイド腫瘍と高悪性度神経内分泌癌 (大細胞神経内分泌癌および小細胞癌) との鑑別を補助するのに、Ki-67増殖性マーカーが有用です (2019年Yatabe氏他) (図11-1)。Ki-67増殖指数の閾値は、20%が非定型カルチノイド腫瘍の上限 (Travis氏他 2015) として、40%~50%が高悪性度神経内分泌癌の下限 (2019年Yatabe氏他) として示唆されています。しかしながら、実際的な観点からは、小細胞癌は通常50%~100%という非常に高いKi-67増殖率を示します (2015年Travis氏他、2010年Rekhtman氏) (図11-2)。

### まとめの回答

Ki-67などの増殖マーカーは、破碎された保存状態の良くない細胞が高悪性度腫瘍に似ていることがあるため、カルチノイド腫瘍と高悪性度神経内分泌癌の鑑別を補助するた

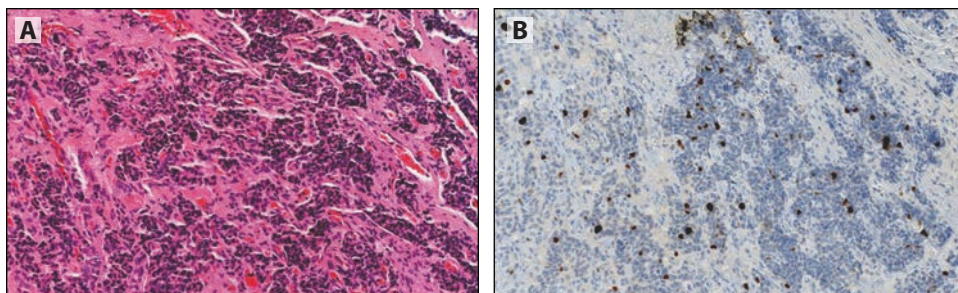


図11-1.低増殖指数を示すKi-67染色は、高悪性度神経内分泌腫瘍に形態学的に類似する破碎生検におけるカルチノイド腫瘍の同定に役立つ可能性があります。(A) H&E、400倍、(B) Ki-67、400倍。

めに、小規模な破碎生検や細胞診サンプルで有用です。増殖マーカーは、原発性胸部神経内分泌腫瘍やその他の胸部腫瘍のルーチン診断評価には必要ありません。

### 定型カルチノイド腫瘍と非定型カルチノイド腫瘍の鑑別におけるKi-67の役割とは？

肺（および胸腺）カルチノイド腫瘍では、2015年の世界保健機関（WHO）の分類を用いて、有糸分裂率および壊死の有無の評価によって、定型カルチノイド腫瘍と非定型カルチノイド腫瘍を鑑別します（2015年Travis氏他）。この分類では、胸部神経内分泌腫瘍の診断または悪性度判定にKi-67を必要としません。Ki-67は腸膵神経内分泌腫瘍のルーチン評価に用いられているため、この点については多少議論の余地がありますが、（2018年Marchevsky氏他、2019年Naheed氏他）、解剖学的に異なる部位に発生する神経内分泌腫瘍の生態は必ずしも同じではなく（2014年Pelosi氏他）、肺神経内分泌腫瘍におけるKi-67を支持するデータは相対的に不足しています。カルチノイド腫瘍はさまざまなKi-67染色を示すことがあります（また、定型カルチノイド腫瘍では、2.3%～4.15%のKi-67増殖指数の範囲が認められ、非定型カルチノイド腫瘍では9%～17.8%であることを示唆するデータもあります）（2014年Pelosi氏他）。最近、Ki-67標識指数のみ（10%未満、10%以上19%未満、20%以上）、または組織学との併用（Ki-67が5%未満の定型カルチノイド、Ki-67が5%以上の定型カルチノイド、および非定型カルチノイド）を使用する、肺カルチノイド腫瘍のいくつかの三分類が予後に関連しています（2018年Marchevsky氏他、2019年Pelosi氏他）。カルチノイド腫瘍165例を対象とした最近の研究では、Ki-67指数（デジタルアルゴリズムを用いて評価）が非定型カルチノイド対定型カルチノイドで有意に上昇し、コホートにおける疾患再発の唯一の有意な予測因子であることが明らかになりました（2020年Dermawan氏およびFarver氏）。

### まとめの回答

定型カルチノイドと非定型カルチノイド腫瘍の鑑別におけるKi-67のルーチン評価の役割は現在のところ確立されていません。

### 生検標本と外科標本における増殖指数の間にはどの程度の一致があるか？

異なる標本タイプの増殖指数を比較する際に利用できるエビデンスのほとんどは、カルチノイド腫瘍に関するものです。カルチノイド腫瘍の増殖指数は、小生検と切除標本で異なる場合があります（図11-3）。一致の程度については議論の余地があり、標準



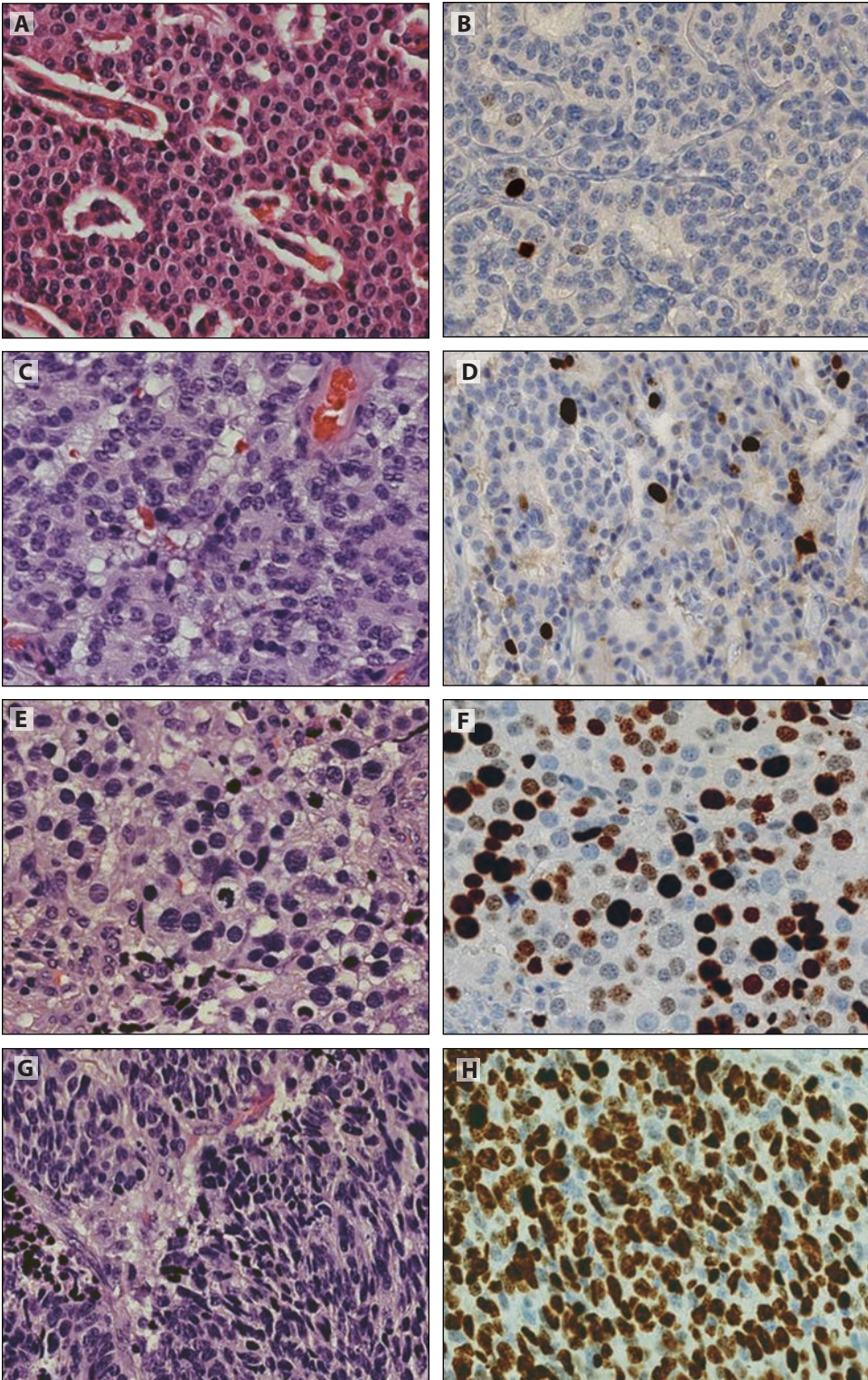


図11-2.肺神経内分泌腫瘍の範囲には、(AおよびB)定型カルチノイド腫瘍、(CおよびD)非定型カルチノイド腫瘍、(EおよびF)大細胞神経内分泌癌、(GおよびH)小細胞癌が含まれます(左列) H&E、400倍(右列) Ki-67 (MIB-1クローン)、400倍。



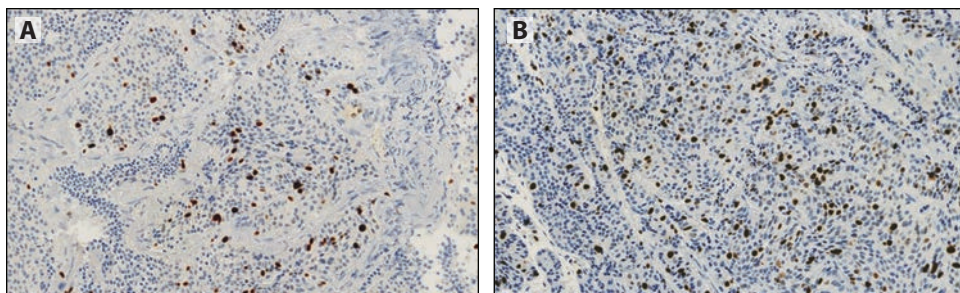


図11-3.このカルチノイド腫瘍の標識指数は、初回の気管支生検では(A) 8.96%、外科切除標本では(B) 17.25%でした。Ki-67 (MIB-1クローン)、400倍。

化されたスコアリングアプローチの欠如(「Ki-67の評価方法」のセクションを参照)(2017年Fabbri氏他、2020年Boland氏他)、Ki-67の不均一性、さらには原発腫瘍と比較して転移性サンプルでしばしば見られるKi-67および有糸分裂率が高いこれらの腫瘍の生物学的特性とある程度は関連しています(2019年b Rekhtman氏他)。

### まとめの回答

小生検と切除標本の間でのKi-67増殖指数の一致については、十分に特徴づけられていません。

### 非小細胞肺癌におけるKi-67の予後的役割とは？

いくつかの研究やメタ分析により、Ki-67のレベルが高いことは非小細胞癌患者の負の予後因子であることが示唆されています(2018年Wei氏他、2019年Yatabe氏他、2016年Chiriac氏)。Ki-67の標準化された評価に基づく質の高いデータが欠如していること、さらには明らかな臨床的有用性がないことが、日常的な臨床診療でのKi-67の使用を妨げています。

### まとめの回答

非小細胞癌の予後マーカーとしてのKi-67の評価には、確立された臨床的役割はありません。

### Ki-67免疫組織化学的抗体の重要性とは？

いくつかのKi-67抗体が市販されており(Biocompare氏、n.d.)、MIB-1クローンが最も頻繁に使用されていますが、肺腫瘍における異なる抗体クローンを比較した良質のデータはありません(2014年Pelosi氏他)。CytoLyt固定を用いるとMIB-1の免疫反応が阻害されるため、最近ではCytoLyt固定細胞ブロックにはKi-67 30-9クローンをを用いるように推奨されています(2019年Buonocore氏他)。その代わりに、中性緩衝ホルマリンで固定することで、この問題を回避することもできます(図11-4)。抗原活性化(熱誘導エピトープ回収)が正しく行われるならば、過固定よりむしろ低固定(6時間未満)のほうがMIB-1染色に有害である可能性があります。

### まとめの回答

MIB-1クローンは、Ki-67の評価に最も頻繁に使用される抗体ですが、肺腫瘍における異なるクローンを比較したデータはほとんどありません。

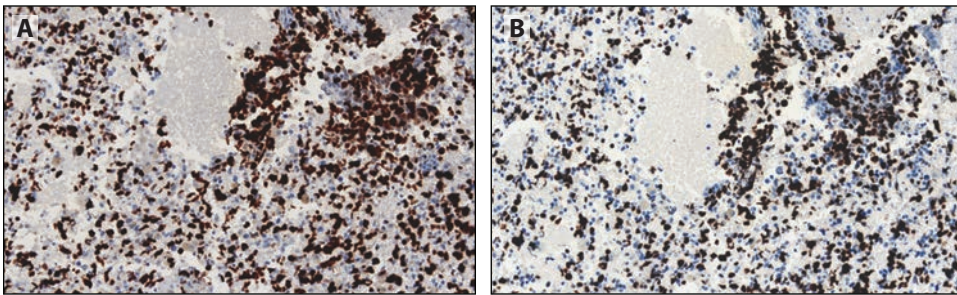


図11-4. 転移性小細胞癌からのこの細胞ブロックを、緩衝ホルマリン中で固定。(A) MIB-1クローンと(B) 30-9クローンを比較しても、Ki-67の発現に有意差は見られませんでした。Ki-67 (MIB-1クローン)、400倍。

### Ki-67はどのように評価されるか？

肺神経内分泌腫瘍（またはその他の胸部腫瘍）に対する標準的なスコアリング法は確立されておらず、異なるアプローチを比較した再現性研究は実施されていません。ほとんどの研究はカルチノイド腫瘍に焦点を当てており（2019年b Rekhtman氏他、2018年Marchevsky氏他、2020年Boland氏他）、ホットスポット法や陽性細胞の手動カウントを用いています（2018年Marchevsky氏他）。均一に発現している腫瘍では、Ki-67増殖指数の単一値は、(1) 20倍のフィールドまたは $2\text{mm}^2$ の領域、または (2) 500～2000個の細胞において核Ki-67染色を示す細胞のパーセンテージに基づいて計算できます（2019年b Rekhtman氏他、2019年Pelosi氏他）。不均一性がある場合は、ホットスポットと平均Ki-67値の両方が使用されています（2019年b Rekhtman氏他）。検証済み核アルゴリズムによる自動定量化は標準化に寄与する可能性があります（2020年Boland氏他）、このアプローチは広く利用できるわけではありません。

### まとめの回答

胸部腫瘍において、Ki-67を評価するための標準化されたアプローチは確立されていません。

### 結論

現在のところ、肺神経内分泌腫瘍（またはその他の胸部腫瘍）の診断評価において、免疫組織化学的な増殖マーカーを日常的に使用する役割はありません。神経内分泌腫瘍の小規模な破碎生検または最適ではない細胞診標本の場合、Ki-67はカルチノイド腫瘍と高悪性度神経内分泌癌との鑑別を助け、高悪性度神経内分泌腫瘍の過剰診断という診断上の落とし穴を避けるのに有用です。

### 参考文献

Biocompare. Anti-Ki-67 antibody products. Accessed March 30, 2020. <https://www.biocompare.com/pfu/110447/soids/3219/Antibodies/Ki-67>

Boland JM, Kroneman TN, Jenkins SM, et al. Ki-67 labeling index in pulmonary carcinoid tumors: comparison between small biopsy and resection using tumor tracing and hot spot methods. *Arch Pathol Lab Med*. Published online January 16, 2020. doi:10.5858/jarpa.2019-0374-OA

Buonocore DJ, Konno F, Jungbluth AA, et al. CytoLyt fixation significantly inhibits MIB1 immunoreactivity whereas alternative Ki-67 clone 30-9 is not susceptible to the inhibition: critical diagnostic implications. *Cancer Cytopathol*. 2019;127(10):643-649.

Chirieac LR. Ki-67 expression in pulmonary tumors. *Transl Lung Cancer Res*. 2016;5(5):547-551.

- Dermawan JKT, Farver CF. The role of histologic grading and Ki-67 index in predicting outcomes in pulmonary carcinoid tumors. *Am J Surg Pathol*. 2020;44(2):224-231.
- Fabbri A, Cossa M, Sonzogni A, et al. Ki-67 labeling index of neuroendocrine tumors of the lung has a high level of correspondence between biopsy samples and surgical specimens when strict counting guidelines are applied. *Virchows Arch*. 2017;470(2):153-164.
- Marchevsky AM, Hendifar A, Walts AE. The use of Ki-67 labeling index to grade pulmonary well-differentiated neuroendocrine neoplasms: current best evidence. *Mod Pathol*. 2018;31(10):1523-1531.
- Naheed S, Holden C, Tanno L, et al. The utility of Ki-67 as a prognostic biomarker in pulmonary neuroendocrine tumours: protocol for a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2019;9(8):e031531.
- Pelosi G, Massa F, Gatti G, et al. Ki-67 evaluation for clinical decision in metastatic lung carcinoids: a proof of concept. *Clin Pathol*. 2019;12:2632010X19829259.
- Pelosi G, Rindi G, Travis WD, et al. Ki-67 antigen in lung neuroendocrine tumors: unraveling a role in clinical practice. *J Thorac Oncol*. 2014;9(3):273-284.
- Rekhtman N. Neuroendocrine tumors of the lung: an update. *Arch Pathol Lab Med*. 2010;134(11):1628-1638.
- Rekhtman N, Baine MK, Bishop JA. *Quick Reference Handbook for Surgical Pathologists*. 2nd ed. Springer; 2019. (a)
- Rekhtman N, Desmeules P, Litvak AM, et al. Stage IV lung carcinoids: spectrum and evolution of proliferation rate, focusing on variants with elevated proliferation indices. *Mod Pathol*. 2019;32(8):1106-1122. (b)
- Travis WD, Brambilla E, Burke AP, et al. eds. *WHO Classification of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart*. 4th ed. International Agency for Research on Cancer (IARC) Press; 2015.
- Wei DM, Chen WJ, Meng RM, et al. Augmented expression of Ki-67 is correlated with clinicopathological characteristics and prognosis for lung cancer patients: an up-dated systematic review and meta-analysis with 108 studies and 14,732 patients. *Respir Res*. 2018;19(1):150.
- Yatabe Y, Dacic S, Borcuk AC, et al. Best practice recommendations for diagnostic immunohistochemistry in lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2019;14(3):377-407.

# 細胞診における免疫組織化学

# 12

執筆者：Lukas Bubendorf, Yuchen Han, Andre L. Moreira

## はじめに

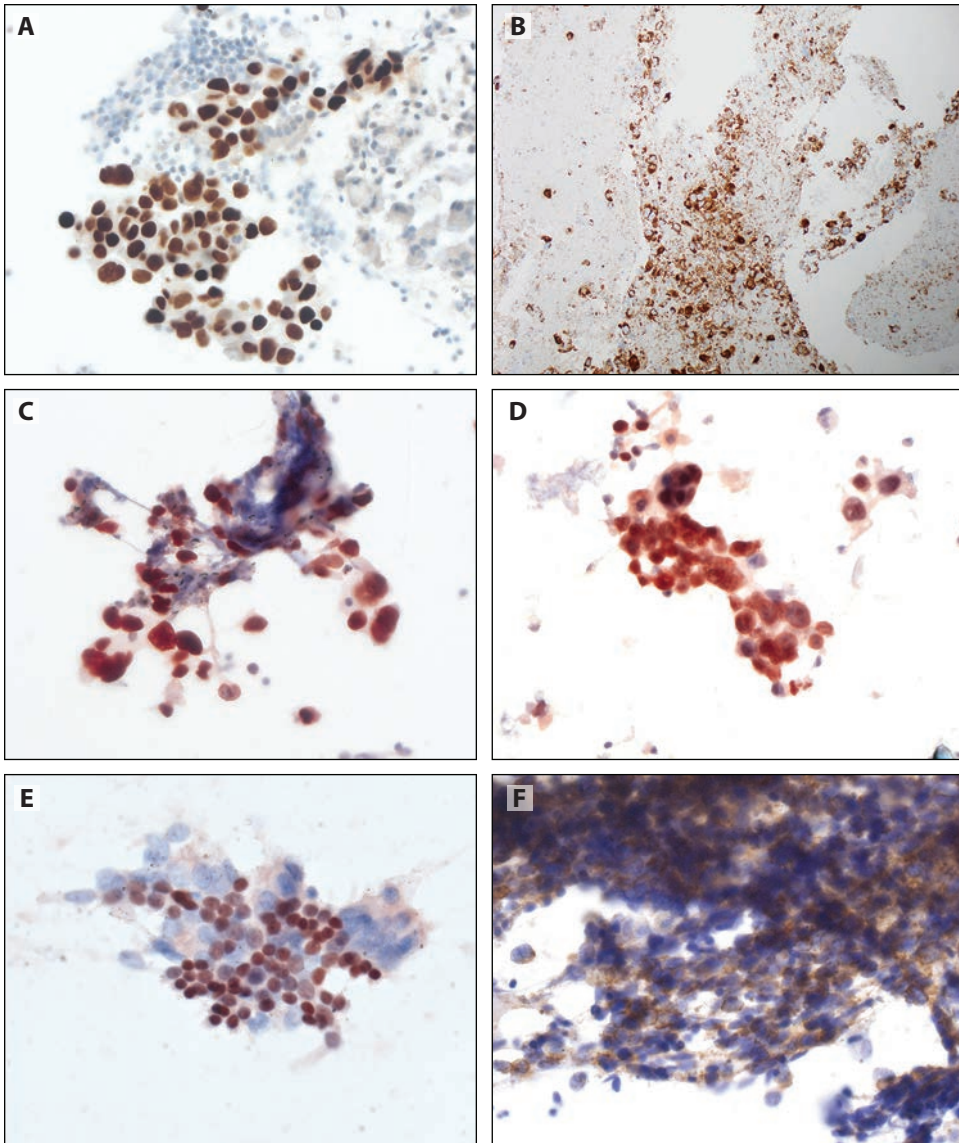
すべての肺癌の診断の最大40%が細胞診単独で行われるため、細胞診標本で高精度の免疫染色を実施する能力は極めて重要です。細胞診は、非小細胞癌 (NSCC: Non-small Cell Carcinoma) の亜型判定において組織構造と同等であるだけでなく、再発性または転移性疾患の反復バイオマーカー分析のための腫瘍材料を採取する魅力的な低侵襲法でもあります (2011年Sigel氏他)。経気管支の超音波気管支内視鏡下穿刺吸引細胞診 (EBUS-FNA: Endobronchial Ultrasound-guided Fine-needle Aspiration) は最も有益な細胞診技術の1つです。ただし、経胸壁FNA、気管支分泌物またはブラシ、気管支肺胞洗浄や胸膜滲出液、または遠隔転移部位からのFNAなどの他の治療法も重要です。細胞診における大きな違いと課題は、組織診と比較して、検査前条件のばらつきが大きいことと、組織のコンテキストが欠如していることに関連しています。NSCCでは、予測可能なバイオマーカーの数が増加しており、免疫組織化学 (IHC: Immunohistochemistry) は、これらの変化のいくつかをスクリーニングする際に、蛍光in situハイブリダイゼーション (FISH: Fluorescence In Situ Hybridization) や分子検査に代わる、迅速で費用対効果の高い方法として使用されている (2019年Jain氏他)。細胞診におけるIHC検査の現状と課題については、最近いくつかの論文で取り上げられています (2016年Zhou氏およびMoreira氏、2017年Bubendorf氏他、2019年Yatabe氏他、2019年Jain氏他)。細胞診の肺癌標本に免疫組織化学検査を行う必要性は議論の余地がありません。

## 次の細胞診サンプルのうち、免疫染色にどれが最適か： セルブロック、風乾、エタノール固定の塗抹標本

### セルブロック標本

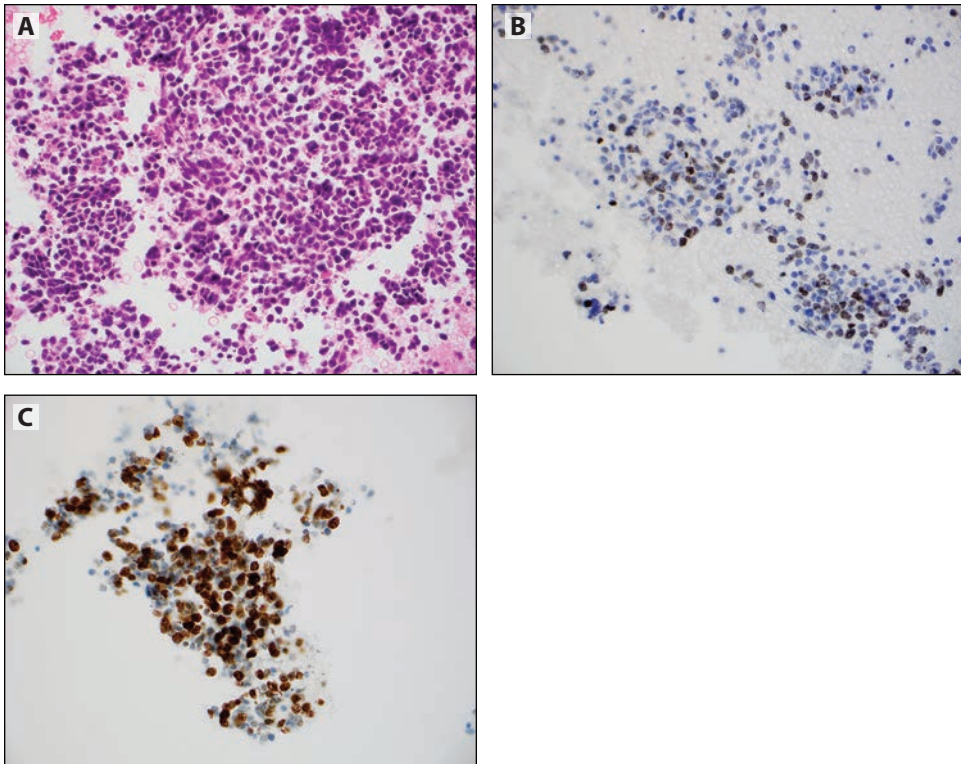
原則として、細胞診の調製は、セルブロック細胞と非セルブロック細胞に分けることができます。セルブロックは、免疫染色プロトコルが最適化されているホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE: Formalin-Fixed Paraffin-Embedded) 組織標本と同様に扱うことができ





**図12-1.(A)** 3,3'-ジアミノベンジジン (DAB) 色素原を用いた超音波内視鏡下 (EBUS) -経気管支針吸引 (TBNA) で得られたセルブロックの甲状腺転写因子1 (TTF1) 陽性非小細胞癌 (NSCC) (BenchMark ULTRA、400倍)。(B) DAB色素原を用いた、EBUS-TBNAからのセルブロックにおけるナプシンA陽性 NSCC (BenchMark ULTRA、400倍)。(C-F) 3 - アミノ - 9 - エチルカルバゾール (AEC) 色素原を用いた、事前にエタノール固定およびパパニコロー染色された塗抹標本におけるIHC (Leica Bond)。(C) EBUS-TBNAにおけるTTF1陽性NSCC (400倍)。(D) プラン細胞診におけるp40陽性扁平上皮癌 (630倍)。(E) 纖毛性呼吸器細胞の下層にあるp40陽性良性基底細胞 (400倍)。(F) 膜性増強が認められる小細胞癌におけるCD56の発現 (TBNA、400倍)。

るため、免疫染色に最もアクセスしやすい細胞診フォーマットです (図12-1AおよびB)。このことは、セルブロックとそれに対応する組織標本との間で、異なるマーカーについて極めて一致した結果を示した研究によって裏付けられています (2019年Yatabe氏他)。しかし、前固定法や調製プロトコルの国際規格が欠如しているという事実が、セルブロックの大きな問題として残っています (2014年Jain氏他、2016年Saqi氏)。現在、セルブロックの調製法には10種類以上の方法が使用されており、米国で最も一般的なものは、血漿トロン



**図12-2.(A)** 神経内分泌腫瘍に対するセルブロックのH&E染色セクション。クロモグラニンとシナプトフィジンの染色は陽性。標本はエタノール **(B)** およびホルマリン **(C)** で固定し、免疫染色を実施。**(B)** Ki-67 (クローンMIB-1) に対するIHC染色では、マーカーの陽性率は低く、低悪性度カルチノイド腫瘍を示唆しています。**(C)** Ki-67 (クローン30.9) に対するIHC染色では、腫瘍細胞の50%以上が陽性であり、高悪性度の神経内分泌 (NE) 腫瘍であることが示唆されています。(画像提供: Memorial Sloan Kettering Cancer CenterのN. Rekhtman博士)

ビン、HistoGel (Thermo Fisher Scientific)、Cellient自動セルブロックシステム (Hologic) (Crapanzano 氏他 2014)、およびこれらを改変したものです (Rekhtman 氏他 2018)。ほとんどすべてのプロトコルは、10%緩衝ホルマリン中でペレットを固定し、それをFFPEブロックに処理するという最終ステップを共有しています。固定には、10%緩衝ホルマリン中での細胞材料の固定、ホルマリン固定前のエタノールまたはメタノールベースの溶液中での予備固定、または95%エタノール中での純粋な固定まで多岐にわたる広い領域が挙げられます。

以前の調査によれば、多種多様な輸送媒体、前固定剤、セルブロックのプロトコルは、免疫染色に関する系統的な問題を生じさせないように見えますが (Fischer 氏他 2014)、最近の分析では、セルブロックの検査前の因子、特にエタノールまたはメタノールの前固定に関連する特定の課題が指摘されています (2016年Zhou氏およびMoreira氏)。CytoLyt固定剤では甲状腺転写因子-1 (TTF1: Thyroid Transcription Factor-1) が発現しない、またはほとんど発現しないことに加え (Gruchy 氏他 2015)、Cellient (Hologic) セルブロックシステムで検査した30の抗体のうち約半数 (43%) が、BenchMark XT Automated IHC/ISH染色装置でFFPE組織標本用に確立した条件を用いた初期検証に失敗しました (2016年Sauter氏他)。また、診断IHCを評価する際には、抗体クローンの影響や前固定の条件を意識することで、重大な問題を防ぐことができます。[図12-2](#)は、一般的に使用されるKi-67クローンにおけるアルコールベースの固定の影響を示しています (2019年Buonocore 氏他)。

FFPEセルブロックは、IHC分析のための細胞診の調製の主流となっていますが、いくつかの制限があります。セルブロックは非セルブロック調製と比較して、時間やコストがかかり、技術的難易度も高いので、すべての患者、すべての検査室で様に利用できるわけではありません(2018年Nambirajan氏およびJain氏、2020年Hendry氏他)。

### 非セルブロック標本

非セルブロック細胞診標本は、さまざまな調製物から構成されており、これには、風乾およびアルコール固定された塗抹標本、サイトスピン標本(Cytospin、Thermo Fisher Scientific)、ThinPrep (Hologic)、またはSurePath (Becton Dickinson)の液体ベースの調製物が含まれます。検査前条件や調製法が多岐にわたるため、非セルブロック標本の免疫染色の標準化は、セルブロックの場合よりもさらに困難です。非セルブロック細胞診で最も広く使用されている固定剤は、エタノールベースのSaccomanno (50%エタノールと2%ポリエチレングリコール)、Delaunay (エタノールとアセトンの等量に0.5mLの1 M トリクロロ酢酸を加えたもの)、および市販のスプレー固定剤である一方で、メタノールベースのCytoLytまたはPreservCyt溶液(後者はThinPrep液体ベースの細胞診スライド調製システムに最適化されている)(Hologic)は保存剤および輸送媒体として役立ちます。エタノールベースの溶血性CytoRich Redコレクション液(Thermo Fisher Scientific)にはホルマリンも含まれています。これらの固定剤や輸送媒体はいずれも免疫染色に問題があり、いくつかの抗体では組織構造との頻繁な不一致結果が得られています(2003年Gong氏他、2011年Skoog氏およびTani氏、2016年Sauter氏他、2012年Gorman氏他、2019年Buonocore氏他)。

それにもかかわらず、UK NEQAS (National External Quality Assessment Service)では、Delaunay、メタノールおよびエタノールベースの溶液、エタノールおよびホルマリンベースのCytoRich Redを含むほぼすべての非ホルマリン固定剤が、ホルマリン単独の場合と同様の免疫染色品質をもたらしました(2011年Kirbis氏他)。したがって、研究室では、これらの固定剤のいずれかを、それらの必要性に応じて使用できます。唯一の注意点は、臨床応用に先立ち、免疫組織化学の手順を厳密に再検証する必要があります。実際、分析因子を適切に改変することにより、非セルブロック調製物でのIHCは、FFPE組織またはセルブロック切片でのIHCと同等であり得るという良好な証拠があります(1995年Abendroth氏およびDabbs氏、1996年Leung氏およびBedard、2012年Denda氏他、2006年Kalhor氏他、2013年Savic氏他、2018年Russell氏-Goldman氏他、2019年Lozano氏他)。非セルブロック標本に免疫染色を施す多くの研究室では、診断用のパニニコロー染色スライドを使用しています(2014年Fischer氏他、2011年Schmitt氏他)([図12-1C-F](#))。

免疫染色反応に悪影響を及ぼさないパニニコロー染色を事前に実施することで、免疫染色に使用可能なスライドをトリージしたり、特に関心のある領域をマーキングしたりすることができます。風乾させた直接塗抹標本やサイトスピン標本ではさまざまな結果が得られており、染色が完全に欠如していると報告する著者もいれば(2014年Fischer氏他、2004年Liu氏およびFarhood氏)、ホルマリンやアルコール/メタノール-アセトンで固定した非染色のスライドでIHCが成功したと報告する著者もいます(2011年Skoog氏およびTani氏)。パニニコロー染色の対比染色は通常、内因性ペルオキシダーゼの遮断中や抗原回収中に漂白されます(2013年Denda氏他)。IHCに先立って、非セルブロック細胞診の前染色スライドをキシレンに浸して、恒久的な装着媒体を溶かし、カバースリップを取り除く必要があります。このプロセスは新鮮な標本では数時間で済みますが、保管期間の長さに応じて、レトロスペクティブ研究では最大数日かかることもあります。以前



に染色されたアルコール固定細胞診スライドのエピトープは、カバースリップで適切に密封されていれば、少なくとも1~2年の保管期間中は無傷のままです(2018年Vlajnic氏他)。熱誘導抗原回収(HIAR: Heat-induced Antigen Retrieval)は、アルコール固定したパピニコロー染色塗抹標本におけるすべての核抗原、ならびに細胞質抗原および膜抗原のサブセットに対するエピトープ反応性を明らかにするために必須であることがわかりました(2012年Denda氏他)。HIARはまた、ThinPrep標本上の特定の抗原に対するIHC染色(2012年Zhang氏他)およびホルマリンで後固定した風乾塗抹標本に対するIHC染色(2012年Roh氏他)を改善することがわかっています。FFPE組織と比較して、細胞診用の塗抹標本では、通常、短時間のHIARで十分です。HIARは抗体ごとに個別に最適化すべきです。

自動染色プラットフォームを使用することで、IHCの結果の標準化と再現性が改善されることが予想されますが、非セルブロック調製に関する公表データはまだ乏しいのが現状です。一部の研究室では、Leica Bond自動染色装置(2018年Vlajnic氏他)、BenchMark XT/ULTRAプラットフォーム(2018年Jain氏他、2013年Martinez氏他、2019年Lozano氏他)、またはDako自動染色装置(2018年Noll氏他)を使用しています。高い免疫染色品質を維持するためには、外部による品質評価も重要です。事実、UK NEQASでは、細胞診における免疫染色の品質を標準化し、向上させるために、外部による品質評価プログラムを実施しています(2011年Kirbis氏他)。

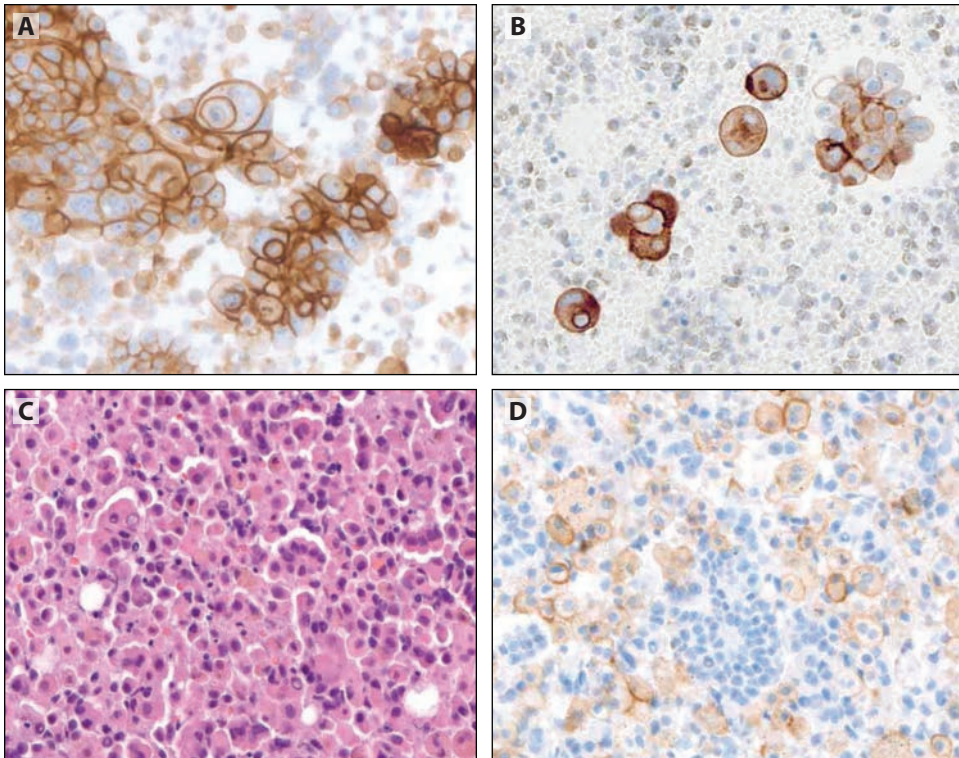
## まとめの回答

セルブロック、エタノール固定スライド、風乾スライドなどの細胞診の調製はすべて、基本的に免疫染色に使用できます。ホルマリン固定のセルブロックは最も簡単で、最もよく使用されます。免疫染色細胞診標本、特に非セルブロック標本では、厳密なプロトコルの最適化、検証、品質管理が必要です。

## 細胞診肺癌標本における免疫組織化学的バイオマーカー予測検査の信頼性はどの程度か?

細胞診のIHCへの関心は、治療のための選択的バイオマーカーとして(例:プログラム細胞死リガンド-1 (PD-L1: Programmed Death Ligand-1) および未分化リンパ腫キナーゼ(ALK: Anaplastic Lymphoma Kinase))、またはその後の分子検査のためのプレスクリーニング法(例: c-ros癌遺伝子1 (ROS1: c-ros oncogene 1)) および神経栄養チロシン受容体キナーゼ(NTRK: Neurotrophic Tyrosine Receptor Kinase)として、予測的バイオマーカー検査の時代に急速に高まっています。ここ数年、細胞診におけるPD-L1検査に関する発表が大幅に増加していることから明らかなように、PD-L1がこの進展の主要な原動力であることは明らかです(2020年Gosney氏他)。バリデーションされた予測IHCアッセイは組織標本に合わせ調整され、細胞診標本は標的薬剤や免疫チェックポイント阻害剤を用いた関連する臨床試験では分析されていませんでした(2018年Thunnissen氏他)。それにもかかわらず、主に細胞診サンプルが得られる低侵襲診断方法の進歩に伴い、臨床業務では細胞診サンプルに対する予測的バイオマーカー検査の需要が高まっています(2019年Jain氏他)。バリデーションされたIHCアッセイを細胞診検体で実施する場合、その処理技術の違いからアッセイの再バリデーションが必要です(2014年Fitzgibbons氏他)。前述したように、細胞診検体の検査前の因子のばらつきが大きいことから、細胞診における免疫組織化学の標準化は困難です。



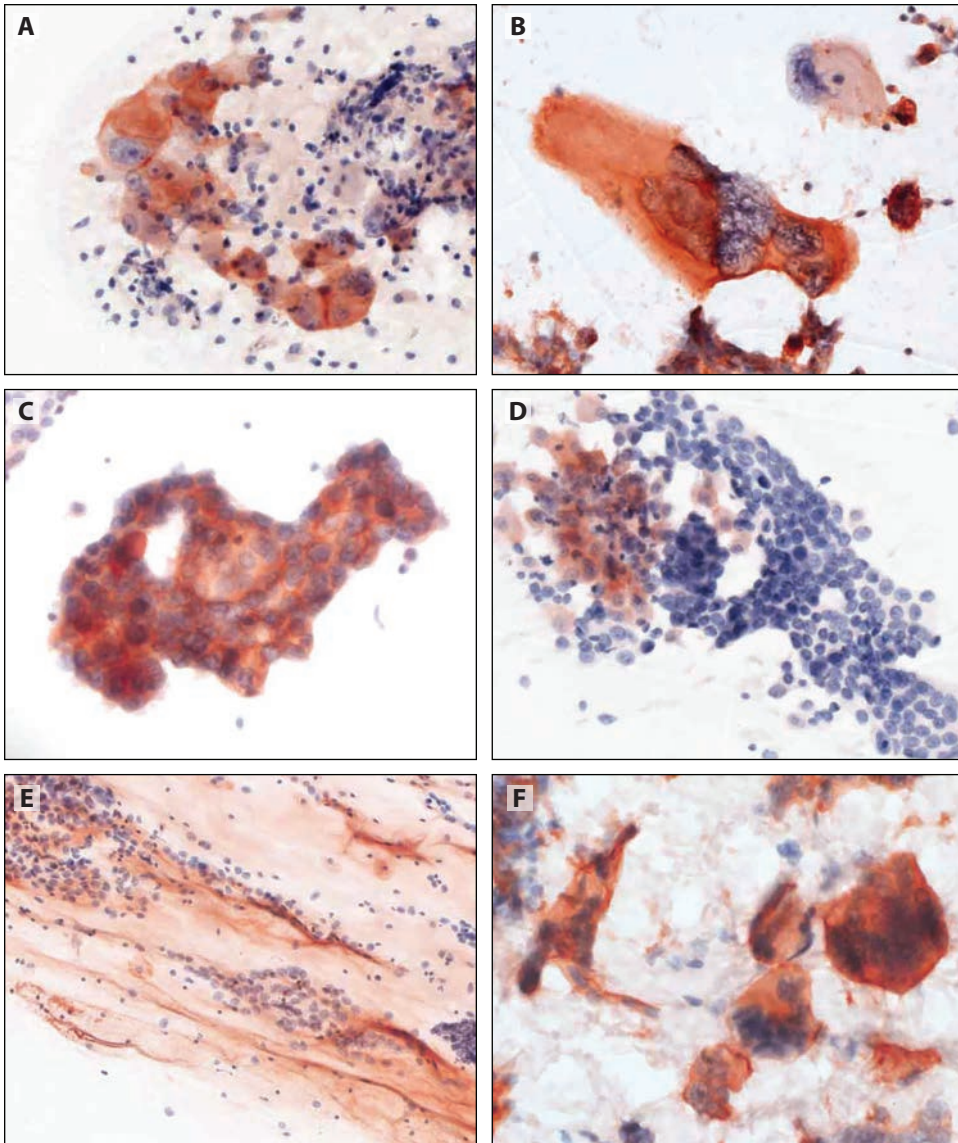


**図12-3.**BenchMark ULTRAで、VENTANA PD-L1 (SP263)アッセイを用いたセルブロック非小細胞癌 (NSCC) 標本におけるプログラム細胞死リガンド1 (PD-L1) IHC(A) すべての腫瘍細胞、または (B) ほとんどの腫瘍細胞で顕著な膜染色が認められます (悪性滲出物、それぞれが400倍)。(C-D) 腺癌細胞のPD-L1陰性凝集体および混合巣状色素性組織球であり、そのほとんどがPD-L1弱陽性 (H&EおよびPD-L1、FNA :それぞれが400倍)。

### PD-L1 IHC

セルブロックに対するPD-L1検査は、組織標本用に開発されたアッセイとプロトコルを用いた一般的な診断方法となっています。事実、この方法は、PD-L1 IHCの高い成功率と、9つの適格な研究の最近のレビューに示されているように、セルブロックとそれに対応する組織標本との間で高い一致を示す、蓄積された事後エビデンスによって正当化されています (2020年Gosney氏他)。対照的に、非セルブロックの標本に関するデータはまだ明らかになってきたばかりですが、同じ方向を示しています (2018年Noll氏他、2018年Jain氏他、2018年Capizzi氏他、2019年Lozano氏他、2019年Munari氏他)。

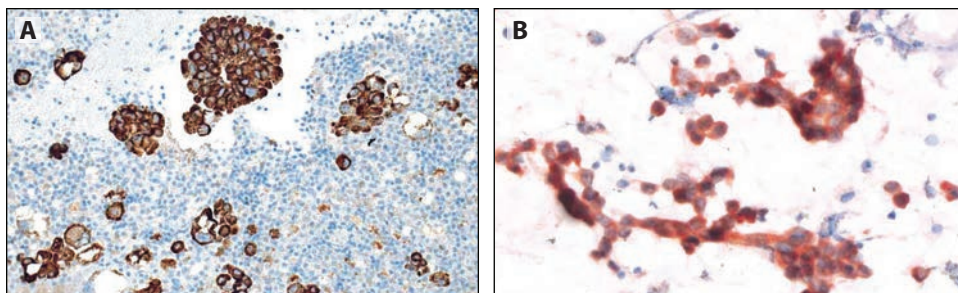
組織標本では、PD-L1染色陽性は、腫瘍細胞の全周性または部分的な線状の細胞質膜染色と定義され、その強度は問いません。腫瘍細胞の細胞質染色のみでは、スコアリングの目的では陽性とはみなされません。これは、セルブロックの薄片にも当てはまります (図12-3 AおよびB)。しかしながら、非セルブロック細胞診標本では、細胞膜は無傷であり、FFPE組織セクションのように切断されないため、膜染色はあまり明瞭ではありません (2017年Bubendorf氏他)。したがって、水平に配向した細胞膜のPD-L1染色は、細胞質染色に似たびまん性表面染色として現れることがあります (図12-4)。原因のマクロファージや炎症細胞の非特異的な細胞質染色に起因するPD-L1陽性の過大評価は、セルブロック標本と非セルブロック標本の両方で発生する可能性があり、炎症細胞や中皮細胞が混ざった単発的に存在している腫瘍細胞が優勢な滲出物サンプルでは特に難易度が高い場合があります (図12-3CとDおよび12-4D)。TTF1や汎白血球マーカー (例: CD45) などの確認用免疫染色を対応するセクションに対して実施すると、PD-L1陽性のスコアリングの



**図12-4.**Leica Bondでの、PD - L1薬事未承認検査 (LDT: Laboratory-developed Test) を用いたエタノール固定およびパピコロー染色NSCC細胞診標本のプログラム細胞死リガンド1 (PD - L1) IHC。(A) 限局性の膜性増強が認められるPD-L1陽性腫瘍細胞 (VENTANA PD-L1 [SP263]アッセイ、400倍)。(B) びまん性の細胞質様染色が認められる多形性腫瘍細胞 (VENTANA PD-L1 [SP142]アッセイ、630倍)。(C) 細胞質様染色および限局性の膜性増強が認められる腫瘍細胞 (Leica 73-10、400倍)。(D) PD-L1陰性腫瘍細胞で、マクロファージが内部の陽性染色コントロールとして機能 (VENTANA PD-L1 [SP263]アッセイ、400倍) (E) ムチンおよび腫瘍細胞の明確でない、弱い染色はPD-L1陰性 (VENTANA PD-L1 [SP263]アッセイ、200倍)。(F) 解離した胎盤絨毛細胞で、PD-L1陽性のコントロールとして機能 (VENTANA PD-L1 [SP263]アッセイ、400倍)。

ための腫瘍細胞の確認に役立ちます。PD-L1 IHCの解釈におけるこれらの固有の難しさ  
と、PD-L1発現の既知の不均一性を考慮すると、腫瘍細胞数が100個未満の細胞診サ  
ンプルでの検査は避けるべきである(2020年Hendry氏他)一方で、少なくとも400個の腫瘍細胞  
を示唆する意見もあります(2020年Dong氏他)。腫瘍細胞のスコアリングとは対照的に、細胞  
診標本の信頼性の高い免疫細胞(IC: Immune Cell)のスコアリングは、組織構造上のコン  
テキストが欠如しているためほぼ不可能であり、したがって実践すべきではありません。





**図12-5.**肺腺癌を再配列した未分化リンパ腫キナーゼ (ALK) の2つのIHC(A) 肺腺癌の悪性滲出物からのセルブロック (BenchMark ULTRA、3,3'-ジアミノベンジジン[DAB]、200倍) および (B) 事前にエタノール固定およびパニニコロー染色された経気管支針吸引 (TBNA) 標本 (Leica Bond、3 - アミノ - 9 - エチルカルバゾール[AEC]、400倍) に対する、5A4抗体 (Novocastra) を用いた薬事未承認検査 (LDT)。

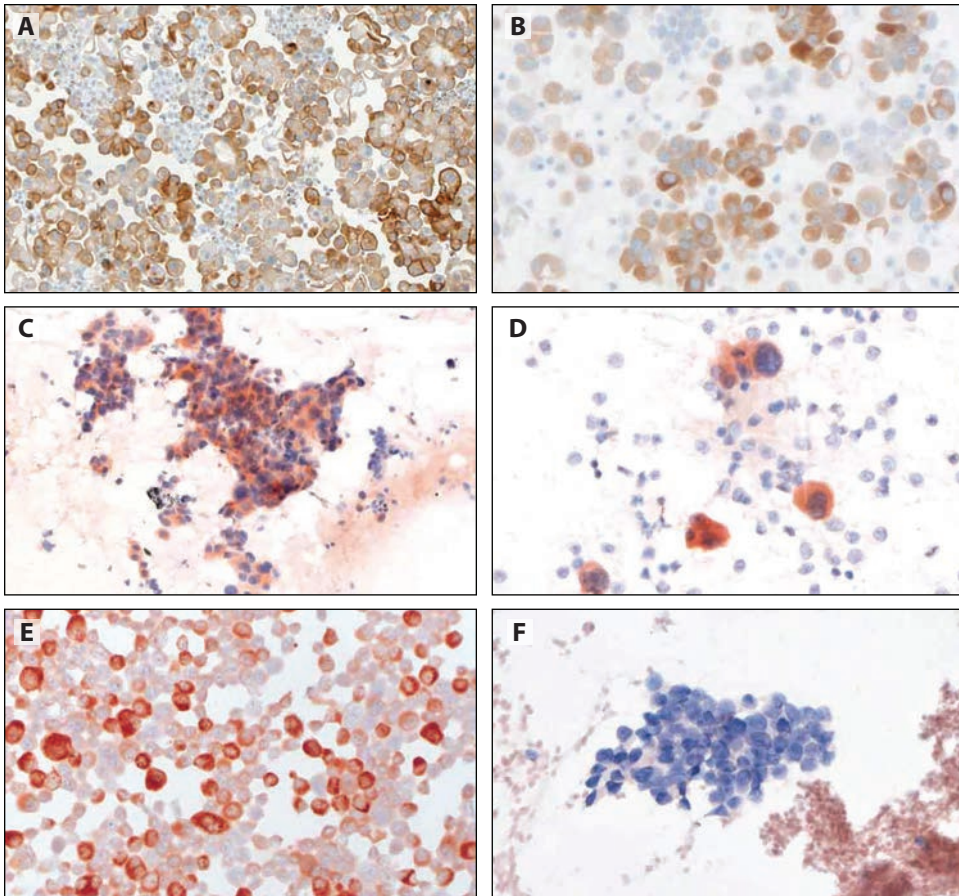
### ALK、ROS1、pan-TRK IHC

ALKまたはROS1タンパク質の過剰発現を検出するIHCは、後続のFISHのための、または不確かなFISH所見のさらなる評価のための、NSCCをスクリーニングする方法として十分に確立されています (第19章で詳細に説明されています)。ALK IHCは、組織標本と同様、細胞診標本にも同じようにうまく適用できます (図12-5)。細胞診におけるALK IHCのほとんどの研究は、IFCの手順を変更せずに、さまざまな自動染色プラットフォーム上で5A4クローンまたはD5F3クローンをを用いてFFPEセルブロックに対して実施されています (2019年Jain氏他)。これらの研究では、FISHによるALK再構成の存在について、特異度 (83%~100%) にばらつきがあるものの、100%の感度が一様に示されています。エタノール固定の非セルブロック調製物もALK IHCで検査されています。アルコール固定塗抹標本で100%の感度を報告している2件の研究を除き、その他の研究ではIHCによる感度が66%から86%と比較的低いことが報告されています (2019年Jain氏)。後者の研究では、ほとんどのセルブロック研究で使用されている高感度のVENTANA ALK (D5F3) CDx アッセイは使用されませんでした。

ROS1 IHCは、第19章で概説したように、組織標本やセルブロックにおけるROS1-再配列肺癌のプレスクリーニングでは非常に正確です。このことは、Leica Bond自動免疫染色装置でD4D6ウサギモノクローナル抗体 (Cell Signaling Technology, Inc.) を使用した場合の細胞診塗抹標本およびCytospin標本についても当てはまるようです (2018年Vlajnic氏他) (図12-6)。新しいVENTANA ROS1 (SP384) ウサギモノクローナル一抗体の、細胞診標本におけるデータはまだありません。ROS1 IHCは高感度ですが特異性に欠けます (2018年Hung氏およびSholl氏)。この抗体はマクロファージや反応性肺細胞を染色し、非ROS1再配列腺癌でもある程度の反応性を示すため、FISHまたは次世代シーケンシングで結果を確認することが推奨されます。

NTRK1-3再配列の検査は、NTRK阻害剤による治療の対象となる患者を選択するための腫瘍非依存性バイオマーカーであり、NSCCやその他の固形腫瘍においても、その必要性が高まっています。NSCCにおけるNTRK再配列の有病率は非常に低い (0.5%未満)、IHCによるプレスクリーニングが推奨されています。抗Pan-TRK抗体EPR173を用いたPan-TRK IHCは、組織標本における感度と特異性が高いことが示されています。FFPE腫瘍組織を対象とした市販のVentana体外診断用 (IVD: In Vitro Diagnostics) アッセイが利用できます (2017年Hechtman氏他)。pan-TRKは細胞診標本にも有効であると予測されますが、そのようなデータはまだ得られていません (図12-7)。





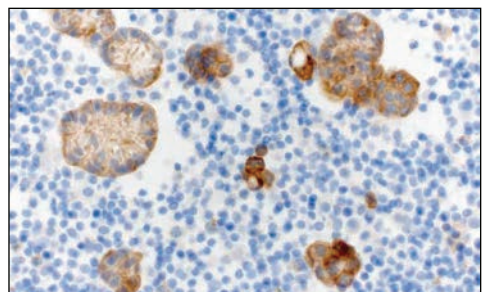
**図12-6.ROS1 IHC。**(A-B) BenchMark ULTRAで、Optiview DAB IHC検出キットを用いたセルブロック、(C-F) Leica Bondで、D4D6抗体(Cell Signaling Technology, Inc.)を用いたエタノールで固定したパニコロー染色標本(色原体にはAEC)。(A) D4D6抗体を用いて肺腺癌を再配列した、*c-ros*癌遺伝子1 (*ROS1*)が認められる悪性滲出物(Cell Signaling Technology, Inc., 200倍)。(B) VENTANA ROS1 (SP384)ウサギモノクローナル一次抗体アッセイを用いて、非*ROS1*を再配列した明確でない*ROS1*染色、Kirstenラット肉腫ウイルス癌遺伝子ホモログ(*KRAS*)変異型肺腺癌(400倍)。(C-D) 均一な細胞質染色を示す、*ROS1*再配列された肺腺癌(それぞれが400倍)。(E) 陽性染色コントロールとして機能する、*ROS1*再配列された非小細胞癌(NSCC)細胞株HCC78 (200倍)。(F) 出血性背景が認められる*ROS1*陰性NSCC (400倍)。

## まとめの回答

細胞診標本はPD-L1、ALK、ROS1の予測的IHCに使用でき、現在推奨されている標本はセルブロックです。非セルブロックのスライドにおけるこれらの予測的IHCに関する限定的なデータは有望ですが、さらなる確認が必要です。

## 結論

細胞診標本が、IHCを含む診断と予測の両方の目的で、肺癌の補助的な検査において、有用かつ不可欠な資源としての役割を果たしていることは議論の余地がありません。FFPEセル



**図12-7.CLIP1-NTRK1遺伝子融合が確認された肺腺癌細胞**Abcam pan-TRK抗体EPR17341を用いた陽性免疫組織化学(セルブロック、400倍)。(画像提供: Joachim Diebold, Lucerne)

ブロックは、組織ベースのIHCプロトコルを用いた既存の技術的ワークフローに組み込むことができる、推奨され、最も一般的に使用されるフォーマットです。経験豊富な研究室では、非セルブロックの細胞診標本でもIHC検査が可能ですが、さらなる研究が必要です。

## 参考文献

- Abendroth CS, Dabbs DJ. Immunocytochemical staining of unstained versus previously stained cytologic preparations. *Acta Cytol.* 1995;39(3):379-386.
- Bubendorf L, Lantuejoul S, de Langen AJ, et al. Nonsmall cell lung carcinoma: diagnostic difficulties in small biopsies and cytological specimens. In: Dorfmuller P, Cavazza A, eds. *Pathology for the Clinician*, vol. 2. *Eur Respir Rev.* 2017;26(144):170007.
- Buonocore DJ, Konno F, Jungbluth AA, et al. CytoLyt fixation significantly inhibits MIB1 immunoreactivity whereas alternative Ki-67 clone 30-9 is not susceptible to the inhibition: critical diagnostic implications. *Cancer Cytopathol.* 2019;127(10):643-649.
- Capizzi E, Ricci C, Giunchi F, et al. Validation of the immunohistochemical expression of programmed death ligand 1 (PD-L1) on cytological smears in advanced non small cell lung cancer. *Lung Cancer.* 2018;126:9-14.
- Crapanzano JP, Heymann JJ, Monaco S, et al. The state of cell block variation and satisfaction in the era of molecular diagnostics and personalized medicine. *Cytojournal.* 2014;11:7.
- Denda T, Kamoshida S, Kawamura J, et al. Optimal antigen retrieval for ethanol-fixed cytologic smears. *Cancer Cytopathol.* 2012;120(3):167-176.
- Denda T, Kamoshida S, Kwamura J, et al. Rapid immunocytochemistry with simple heat-induced antigen retrieval technique for improvement in the quality of cytological diagnosis. *J Histochem Cytochem.* 2013;61(12):920-930.
- Dong Z, Liu Y, Jiang T, et al. Cell block as a surrogate for programmed death-ligand 1 staining testing in patients of non-small cell lung cancer. *J Cancer.* 2020;11(3):551-558.
- Fischer AH, Schwartz MR, Moriarty AT, et al. Immunohistochemistry practices of cytopathology laboratories: a survey of participants in the College of American Pathologists Nongynecologic Cytopathology Education Program. *Arch Pathol Lab Med.* 2014;138(9):1167-1172.
- Fitzgibbons PL, Bradley LA, Fatheree LA, et al. Principles of analytic validation of immunohistochemical assays: guideline from the College of American Pathologists Pathology and Laboratory Quality Center. *Arch Pathol Lab Med.* 2014;138(11):1432-1443.
- Fulciniti F, Frangella C, Staiano M, et al. Air-dried smears for optimal diagnostic immunocytochemistry. *Acta Cytol.* 2008;52(2):178-186.
- Gong Y, Sun X, Michael CW, et al. Immunocytochemistry of serous effusion specimens: a comparison of ThinPrep vs cell block. *Diagn Cytopathol.* 2003;28(1):1-5.
- Gorman BK, Kosarac O, Chakraborty S, et al. Comparison of breast carcinoma prognostic/predictive biomarkers on cell blocks obtained by various methods: cellient, formalin and thrombin. *Acta Cytol.* 2012;56(3):289-296.
- Gosney JR, Boothman AM, Ratcliffe M, et al. Cytology for PD-L1 testing: a systematic review. *Lung Cancer.* 2020;141:101-106.
- Gruchy JR, Barnes PJ, Dakin Hache KA. CytoLyt fixation and decalcification pretreatments alter antigenicity in normal tissues compares with standard formalin fixation. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2015;23(4):297-302.
- Hechtman JF, Benayed R, Hyman DM, et al. Pan-TRK immunohistochemistry is an efficient and reliable screen for the detection of NTRK fusions. *Am J Surg Pathol.* 2017;41(11):1547-1551.
- Hendry S, Byrne DJ, Christie M, et al. Adequate tumour cellularity is essential for accurate PD-L1 immunohistochemistry assessment on cytology cell-block specimens. *Cytopathology.* 2020;31(2):90-95.
- Hung YP, Sholl LM. Diagnostic and predictive immunohistochemistry for non-small cell lung carcinomas. *Adv Anat Pathol.* 2018;25(6):374-386.
- Jain D, Mathur SR, Iyer VK. Cell blocks in cytopathology: a review of preparative methods, utility in diagnosis and role in ancillary studies. *Cytopathology.* 2014;25(6):356-371.
- Jain D, Nambirajan A, Borczuk A, et al. Immunocytochemistry for predictive biomarker testing in lung cancer cytology. *Cancer Cytopathol.* 2019;127(5):325-339.
- Jain D, Sukumar S, Mohan A, et al. Programmed death-ligand 1 immunoexpression in matched biopsy and liquid-based cytology samples of advanced stage non-small cell lung carcinomas. *Cytopathology.* 2018;29(6):550-557.
- Kalhor N, Zander DS, Liu J. TTF-1 and p63 distinguishing pulmonary small-cell carcinoma from poorly differentiated squamous cell carcinoma in previously pan-stained cytologic material. *Mod Pathol.* 2006;19(8):1117-1123.
- Kirbis IS, Maxwell P, Flezar MS, et al. External quality control for immunocytochemistry on cytology

- samples: a review UK NEQAS ICC (cytology module) results. *Cytopathology*. 2011;22(4):230-237.
- Leung SW, Bedard YC. Immunocytochemical staining on ThinPrep processed smears. *Mod Pathol*. 1996;9(3):304-306.
- Liu J, Farhood A. Immunostaining for thyroid transcription factor-1 on fine-needle aspiration specimens of lung tumors: a comparison of direct smears and cell block preparations. *Cancer*. 2004;102(2):109-114.
- Lozano MD, Abengozar-Muela M, Echeveste JI, et al. Programmed death-ligand 1 expression on direct Pap-stained cytology smears from non-small cell lung cancer: comparison with cell blocks and surgical resection specimens. *Cancer Cytopathol*. 2019;127(7):470-480.
- Martinez P, Hernandez-Losa J, Montero MA, et al. Fluorescence in situ hybridization and immunohistochemistry as diagnostic methods for ALK positive non-small cell lung cancer patients. *PLoS One*. 2013;8(1):e52261.
- Munari E, Zamboni G, Sighele G, et al. Expression of programmed cell death ligand 1 in non-small cell lung cancer: comparison between cytologic smears, core biopsies, and whole sections using the SP263 assay. *Cancer Cytopathol*. 2019;127(1):52-61.
- Nambirajan A, Jain D. Cell blocks in cytopathology: an update. *Cytopathology*. 2018;29(6):505-524.
- Noll B, Wang WL, Gong Y, et al. Programmed death ligand 1 testing in non-small cell lung carcinoma cytology cell block and aspirate smear preparations. *Cancer Cytopathol*. 2018;126(5):342-352.
- Rekhtman N, Buonocore DJ, Rudomina D, et al. Novel modifications of HistoGel-based cell block preparation method: improved sufficiency for molecular studies. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(4):529-535.
- Roh MH, Schmidt L, Placido J, et al. The application and diagnostic utility of immunocytochemistry on direct smears in the diagnosis of pulmonary adenocarcinoma and squamous cell carcinoma. *Diagn Cytopathol*. 2012;40(11):949-955.
- Russell-Goldman E, Kravets S, Dahlberg SE, et al. Cytologic-histologic correlation of programmed death-ligand 1 immunohistochemistry in lung carcinomas. *Cancer Cytopathol*. 2018;126(4):253-263.
- Saqi A. The state of cell blocks and ancillary testing: past, present, and future. *Arch Pathol Lab Med*. 2016;140(12):1318-1322.
- Sauter JL, Grogg KL, Vrana JA, et al. Young investigator challenge: validation and optimization of immunohistochemistry protocols for use on cellient cell block specimens. *Cancer Cytopathol*. 2016;124(2):89-100.
- Savic S, Bode B, Diebold J, et al. Detection of ALK-positive non-small-cell lung cancers on cytological specimens: high accuracy of immunocytochemistry with the 5A4 clone. *J Thorac Oncol*. 2013;8(8):1004-1011.
- Schmitt F, Cochand-Priollet B, Toetsch M, et al. Immunocytochemistry in Europe: results of the European Federation of Cytology Societies (EFCS) inquiry. *Cytopathology*. 2011;22(4):238-242.
- Sigel CS, Moreira AL, Travis WD, et al. Subtyping of non-small cell lung carcinoma: a comparison of small biopsy and cytology specimens. *J Thorac Oncol*. 2011;6(11):1849-1856.
- Skoog L, Tani E. Immunocytochemistry: an indispensable technique in routine cytology. *Cytopathology*. 2011;22(4):215-229.
- Thunnissen E, Allen TC, Adam J, et al. Immunohistochemistry of pulmonary biomarkers: a perspective from the members of the Pulmonary Pathology Society. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(3):408-419.
- Vlajnic T, Savic S, Barascud A, et al. Detection of ROS1-positive non-small cell cancer on cytological specimens using immunocytochemistry. *Cancer Cytopathol*. 2018;126(6):421-429.
- Yatabe Y, Dacic S, Borczuk AC, et al. Best practice recommendations for diagnostic immunohistochemistry in lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2019;14(3):377-407.
- Zhang Z, Zhao L, Guo H, et al. Diagnostic significance of immunocytochemistry on fine needle aspiration biopsies processed by thin-layer cytology. *Diagn Cytopathol*. 2012;40(12):1071-1076.
- Zhou F, Moreira AL. Lung carcinoma predictive biomarker testing by immunoperoxidase stains in cytology and small biopsy specimens: advantages and limitations. *Arch Pathol Lab Med*. 2016;140(12):1331-1337.





# 肺腺癌のバリエーションに対する免疫マーカー

# 13

執筆者：Mari Mino-Kenudson、Sanja Dacic

## はじめに

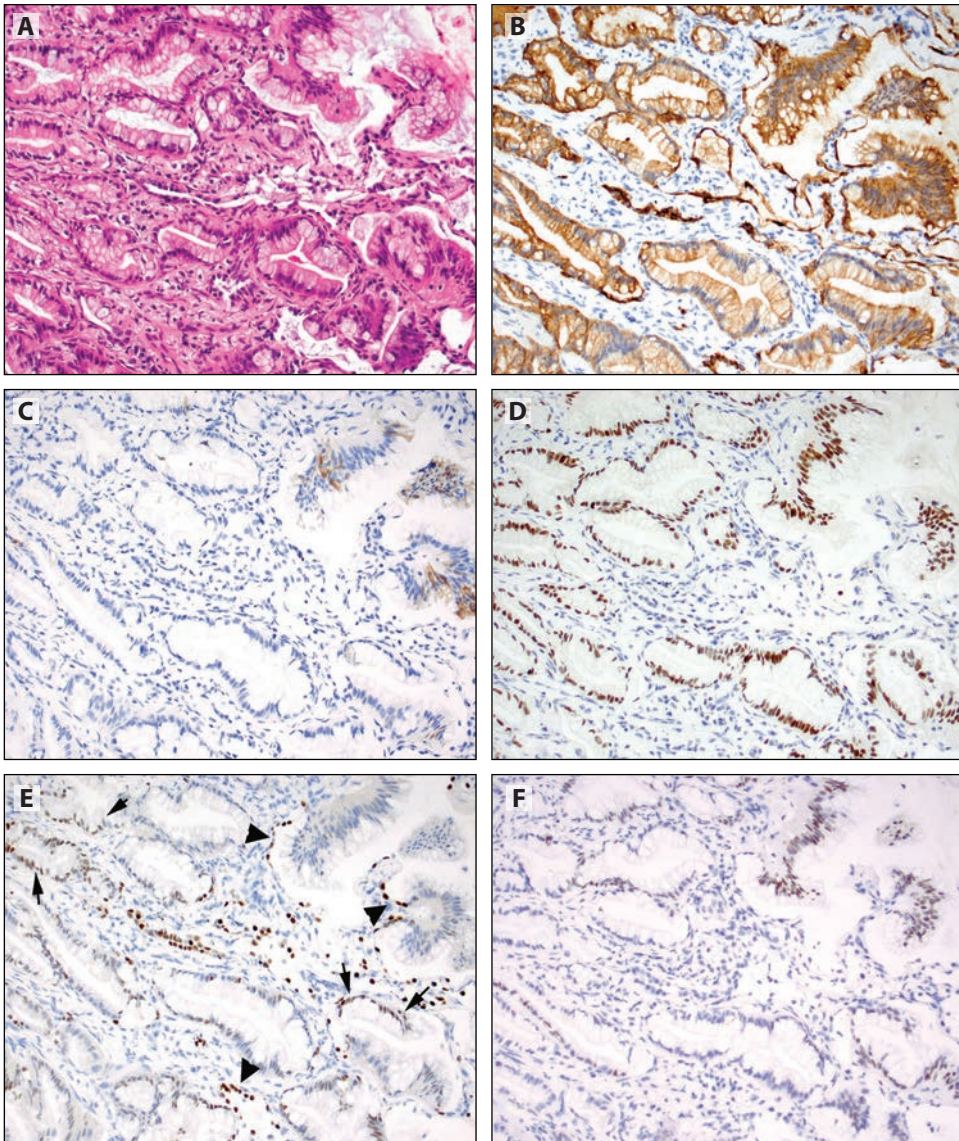
肺腺癌のバリエーションには、浸潤性粘液性腺癌 (IMA: Invasive Mucinous Adenocarcinoma)、コロイド腺癌、腸型腺癌、胎児性腺癌があります。これらは独特の細胞形態学的特徴を示し、診断には通常、免疫組織化学 (IHC: Immunohistochemistry) を必要としません。ただし、肺外部位からの転移は、同じ組織学的特徴を共有することがあります。したがって、IHC は原発性腫瘍と転移性腫瘍の鑑別に有用であり、正しい診断を下すためには臨床病理学的相関がしばしば必要となります。さらに、IHC は IMA の診断を確定するために非悪性の模倣体を除外するのに有用である可能性があります。

## 浸潤性粘液性腺癌

IMA の診断は、通常は特徴的な細胞形態、すなわち、豊富な細胞質内ムチンおよび/または杯細胞を有する、高さのある円柱細胞が腫瘍細胞のかなりの割合を占めており、鱗状増殖パターンを示しているという点に基づいて行われます。したがって、IHC は通常、診断を下すために必要ではありませんが、診断を確定するのに有用な状況がいくつかあります。そのような状況とは、(1)少量の組織サンプルで診断を裏付けるため、(2)粘液性変成を伴う細気管支周囲化生や線毛性粘液結節性乳頭状腫瘍 (細気管支腺腫) などの非悪性プロセスとの鑑別のため、などです。また、従来の腺癌では、過剰発現ムチンを産生することはほとんどなく、IMA と混同されることがあります。IMA と肺外部位のムチン産生腫瘍との鑑別に関しては、IMA の免疫プロファイルが膵胆道や消化 (GI) 管の原発性腺癌と共通していることから、非常に困難です。

## 浸潤性粘液性腺癌の免疫プロファイルとは何か？

ほとんどの IMA は甲状腺転写因子 1 (TTF1: Thyroid Transcription Factor-1) とナプシン A の免疫反応が陰性か、局所的にしか反応しませんが、ほとんどすべての病変でサイト



**図13-1.(A)** 浸潤性粘液性腺癌の一例で、豊富な細胞質内ムチンおよび腺房と鱗状パターンの散在した杯細胞を有する、高さのある円柱細胞を示しています。**(B)** 病変細胞はサイトケラチン7 (CK7) に対してびまん性に陽性であり、**(C)** CK20に対して局所的に陽性です。**(D)** 肝細胞核因子4 $\alpha$  (HNF4 $\alpha$ ) 免疫染色では、ほぼすべての腫瘍細胞の核が強調され、**(E、矢印)** 甲状腺転写因子1 (TTF1) と **(F)** CDX2の核発現は腫瘍細胞のサブセットに限定されます。CK20とCDX2は共存する傾向があります。注目すべきことに、**(E、矢印)** 背景の肺胞上皮細胞は、TTF1の強い核発現を示します。

ケラチン7 (CK7: Cytokeratin 7) が発現しています (図13-1)。同時に、CK20および腸転写因子であるCDX2は、IMAの40%~50%で陽性です (2019年Yatabe氏他)。興味深いことに、ほとんどのIMA、特にTTF1を発現しないIMAは、肝胆道や消化管に見られるもう1つの核内転写因子である肝細胞核因子4 $\alpha$  (HNF4 $\alpha$ : Hepatocyte Nuclear Factor 4 Alpha) に反応します (2013年Sugano氏他)。

### 免疫染色は浸潤性粘液性腺癌の診断に有用か？

肺外部位に発生した粘液性腺癌は、肺への転移時に鱗状増殖パターンを示すことがあります。そのため形態だけで原発性肺IMAとこれらの腫瘍を鑑別することは非常に困



難です。IMAはCK7とともにCDX2およびHNF4 $\alpha$ を含む腸分化マーカーを発現することが多く、これらは膵胆管や上部消化管の原発巣と共通するマーカーであることを考えると、残念ながらIHCはこのコンテキストでは有用ではないかもしれません。しかし、TTF1が有意に発現している場合、肺原発腫瘍の可能性が高いと考えられます。

逆に、IHCは、IMAと非悪性腫瘍を鑑別するのに役立ちます。たとえば、IMAは通常の間質性肺炎(UIP: Usual Interstitial Pneumonia)の患者に発症する肺癌のかなりの割合を占めており、UIPに見られる細気管支周囲化生/牽引性気管支拡張と関連してしばしば見られる粘液性変成は、IMAと同じ働きをする可能性があります。IMAの形態がしばしば高分化であることを考えると、間質性線維症の背景および/または小生検標本でIMAを診断することは困難です。このような場合、TTF1 (±ナプシンA)、p40、HNF4 $\alpha$ の染色パネルが有用です。非腫瘍性の増殖は、p40を発現する基底細胞を保持し、HNF4 $\alpha$ は発現しません。繊毛性粘液結節性乳頭状腫瘍は、ムチンが豊富に溜まり、粘液性細胞が存在し、多様な増殖パターンがあり、IMAに酷似することがあるため、もう1つの重要な鑑別診断です(2019年Lu氏およびYeh氏)。肺胞壁の内側を覆う、または腺を形成する粘液性細胞群に繊毛がないことに加え、p40+基底細胞が欠如していることは、IMAの診断を裏付けています(2018年Chang氏他)。

[図13-2E](#)および[F](#)は、間質性線維症の患者IMAの別の例を示しています。繊維性間質を背景に、輪郭がやや不規則ですが、明らかな細胞学的異型性は認められない粘液腺と、ムチンを伴う、または伴わない細気管支周囲化生がわずかに認められます([図13-2E](#)、[矢印](#))。p40免疫染色では、細気管支と肺胞柔組織に、細気管支周囲化生を伴う陽性核が認められます([図13-2F](#))。一方、粘液腺群はp40に対して完全に陰性である(基底細胞が欠如している)ことから、IMAの診断が裏付けられます。

## まとめの回答

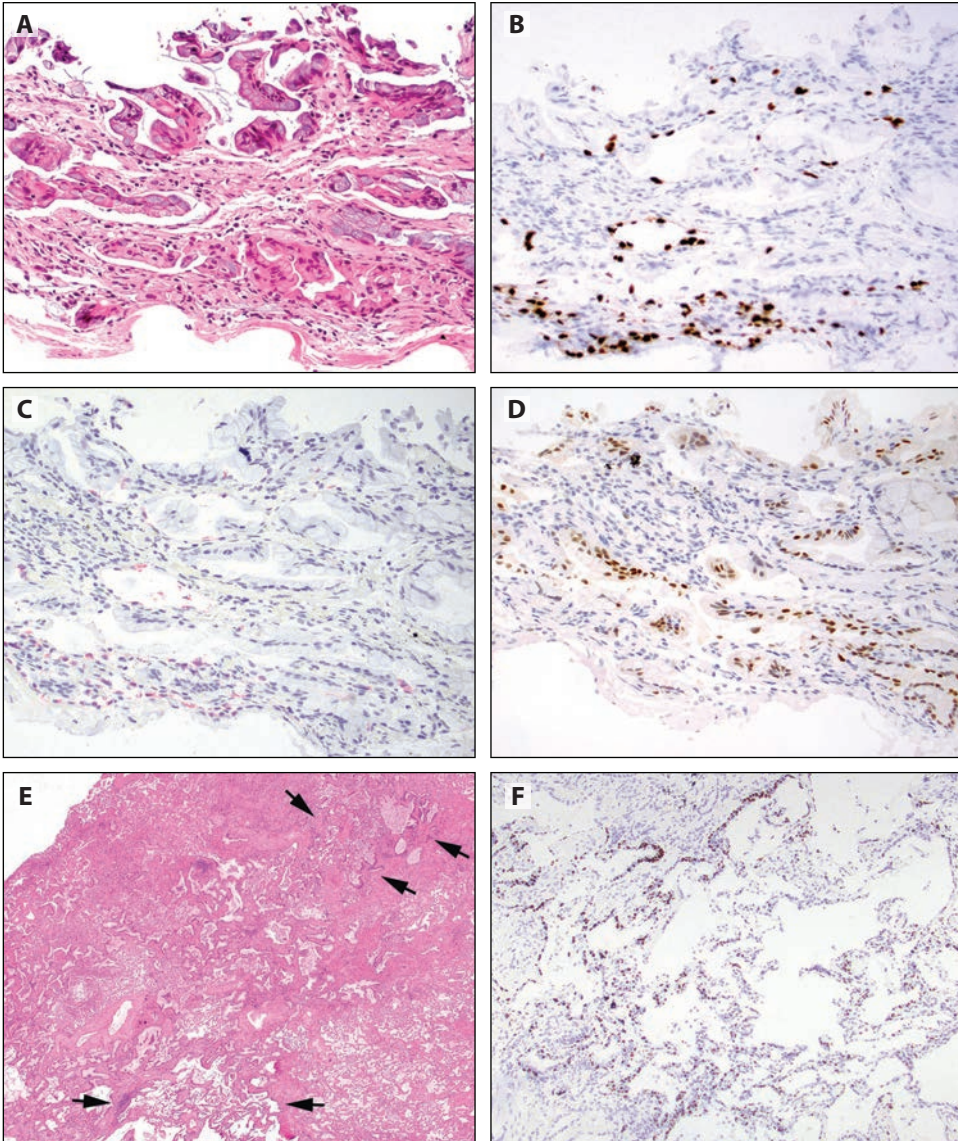
IMAは、CDX2およびHNF4 $\alpha$ などの腸分化マーカーやCK7を発現することが多いですが、TTF1やナプシンAの発現は限られています。したがって、IMAと肺外の原発腫瘍、特に上部消化管や膵胆管の原発腫瘍からの転移との鑑別は、臨床病理学的な相関関係がなければ極めて困難であると考えられます。逆に、IHCは、IMAと非悪性腫瘍および非IMA肺腺癌を鑑別するのに役立ちます。

## コロイド腺癌

肺コロイド腺癌は、上皮が乏しいムチンの貯留を特徴とする極めて稀な腫瘍であり、消化管、卵巣、乳房の粘液性腺癌と組織学的特徴が類似しています。したがって、肺原発腫瘍の診断を裏付ける目的で、IHCが必要となる場合があります。

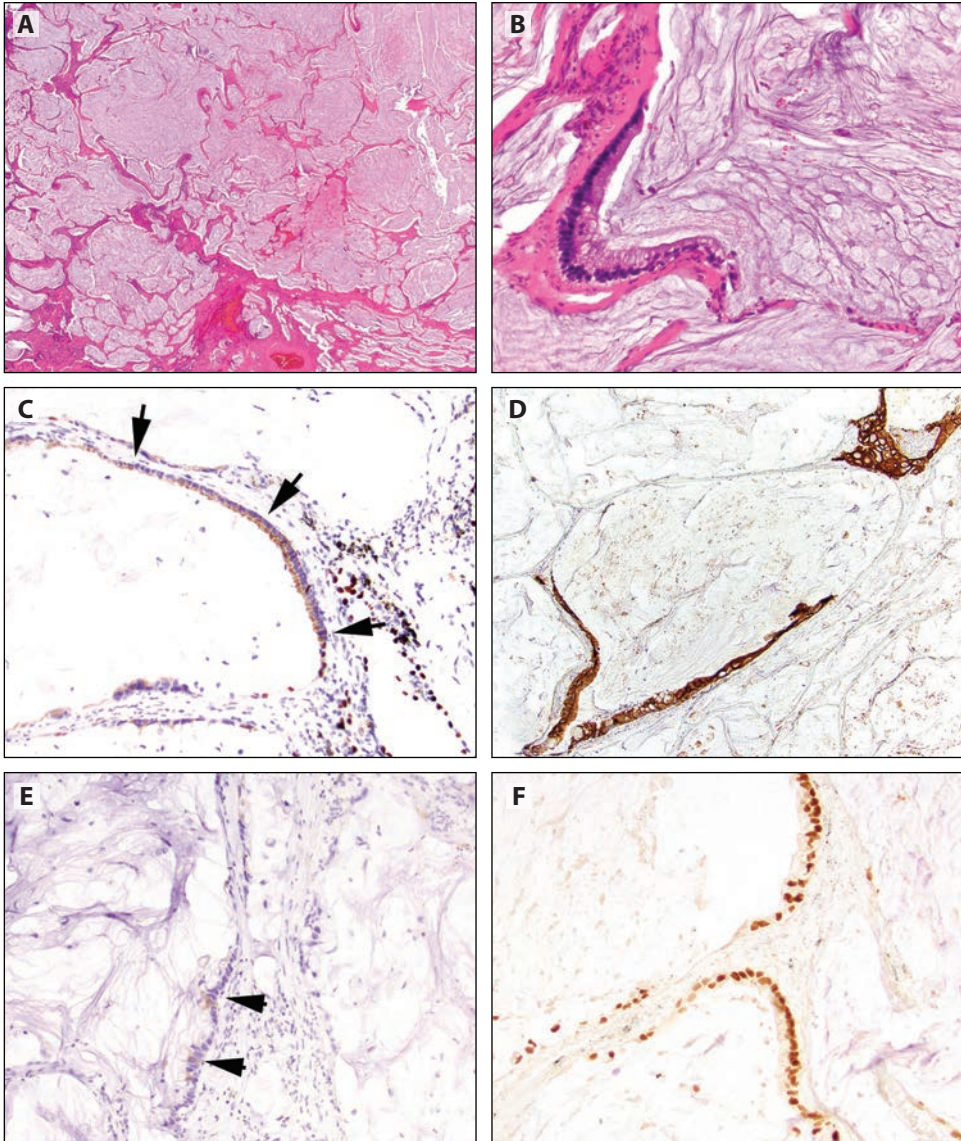
## 肺コロイド腺癌の免疫プロファイルとは？

肺コロイド腺癌は、しばしば肺と腸の両方の腺癌マーカーに対して反応します([図13-3](#))。TTF1、ナプシンA、CK7が腫瘍のそれぞれ60%、50%、90%に発現するのが認められ、CDX2、CK20はそれぞれ70%、90%に発現するのが認められます(2004年 Rossi氏他、2015年 Zenali氏他、2019年 Yatabe氏他)。これらのマーカーに加え、GATA3とエストロゲン受容体(ER: Estrogen Receptor)(乳房コロイド癌の場合)、PAX8(卵巣粘液性癌の場合)を含むパネルは、肺原発腫瘍と他部位からの転移を鑑別するのに有用です。



**図13-2.(A-D)** 浸潤性粘液性腺癌のコア生検で、肺胞壁の内側を覆う、または、**(A)** 軽度の繊維性間質の背景で、軽度の細胞学的異型性を伴う粘液性細胞のクラスターが認められます。甲状腺転写因子1 (TTF1) の免疫染色では肺胞上皮細胞が強調されていますが、粘液性細胞は **(B)** TTF1または **(C)** p40に反応しません。逆に、粘液性細胞の大部分は肝細胞核因子4 $\alpha$  (HNF4 $\alpha$ ) の **(D)** 核内発現を示しており、浸潤性粘液性腺癌との診断を確認します。**(EおよびF)** 間質性線維症の患者に見られた浸潤性粘液性腺癌の別の例。1.5cmの不定形な胸膜下結節で、繊維性間質を背景に、輪郭がやや不規則ですが、明らかな細胞学的異型性は認められない粘液腺と、ムチンを伴う、または伴わない細気管支周囲化生がわずかに認められます**(E、矢印)**。p40免疫染色では、細気管支と肺胞柔組織に、細気管支周囲化生を伴う陽性核が認められます **(F)**。一方、粘液腺群はp40に対して完全に陰性である(基底細胞が欠如している)ことから、浸潤性粘液性腺癌の診断が確定されます。





**図13-3.**(A) 肺コロイド腺癌は、肺胞を拡張および破壊するムチンプールからなり、(B) 肺胞隔壁の内側を覆う粘液性細胞の稀な散在性病巣を伴います。(C、矢印) 免疫組織化学的には、腫瘍細胞において甲状腺転写因子1 (TTF1)の核内発現は陰性ですが、細胞質発現は弱いです。後者は鑑別診断には役に立ちません。(D) 腫瘍にはびまん性のCK7発現と、(E、矢印)非常に限局性のCK20発現が見られます。(F) CDX2はまた、ほとんどの腫瘍核を強調します。このような肺と腸のマーカー発現の混合パターンは、肺コロイド腺癌に特徴的です。



残念ながら、すべての転移性腫瘍が原発部位の発現パターンを再現するわけではないので、IHCはこのような状況で必ずしも明確な結論をもたらすとは限りません。したがって、臨床病理学的な相関関係が常に重要です。

### まとめの回答

IHCのパネル(CK7、CK20、TTF1、ナプシンA、CDX2、その他の肺外部位特異的マーカー)は、肺コロイド腺癌と肺外部位に転移した粘液性腺癌とを鑑別するのに有用です。

### 腸型腺癌

腸型腺癌は、大腸に発生する腺癌に類似した、肺腺癌の稀なバリエーションです。したがって、診断には大腸原発部位からの転移を除外する必要があります(2015年Travis氏他)。IHCの精密検査とともに、慎重な臨床病理学的な相関関係が有用です。

### 肺の腸型腺癌と転移性大腸癌の鑑別に最適なIHCパネルとは？

予想どおり、腸型肺腺癌はしばしば腸マーカーを発現します。腫瘍の半数はCK20とCDX2を発現しますが、TTF1とナプシンAの発現は3分の1の症例に限られます。このような状況では、CK7とSATB2をIHCパネルに含めることが有用かもしれませんが、データによれば識別力はおそらく弱いです。CK7は通常、肺腺癌の約85%で強く、びまん性ですが、大腸腺癌の最大27%で弱く、限局性であるのに対し、SATB2では通常、その逆が見られ、大腸癌(CRC: Colorectal Cancer)の85%では強く、びまん性であり、肺腺癌の約14%で弱く、限局性でした(2013年Lin氏他、2019年Jurmeister氏他、2019年Gu氏他、2019年Zhang氏他、2017年Bian氏他、2017年Matsushima氏他)。

### まとめの回答

IHCのパネル(CK7とSATB2を含む)は、腸型肺腺癌と転移性大腸腺癌の鑑別に役立つ可能性があります(図13-4)。

### 胎児性腺癌

胎児性肺腺癌は胎児肺の偽腺期に類似し、グリコーゲンに富む非線毛細胞からなる複雑な腺構造を特徴とします。低悪性度および高悪性度の胎児性腺癌が報告されています。低悪性度型は、疎性線維粘液性間質を背景に、低核異型性およびmorule形成を示しますが、高悪性度型は、より顕著な核異型性、moruleの欠如、壊死、従来の腺癌の微量成分への移行を示します(2015年Travis氏他)。IHCは、胎児性肺腺癌を転移性子宮内膜腺癌と鑑別するために必要な場合があります。

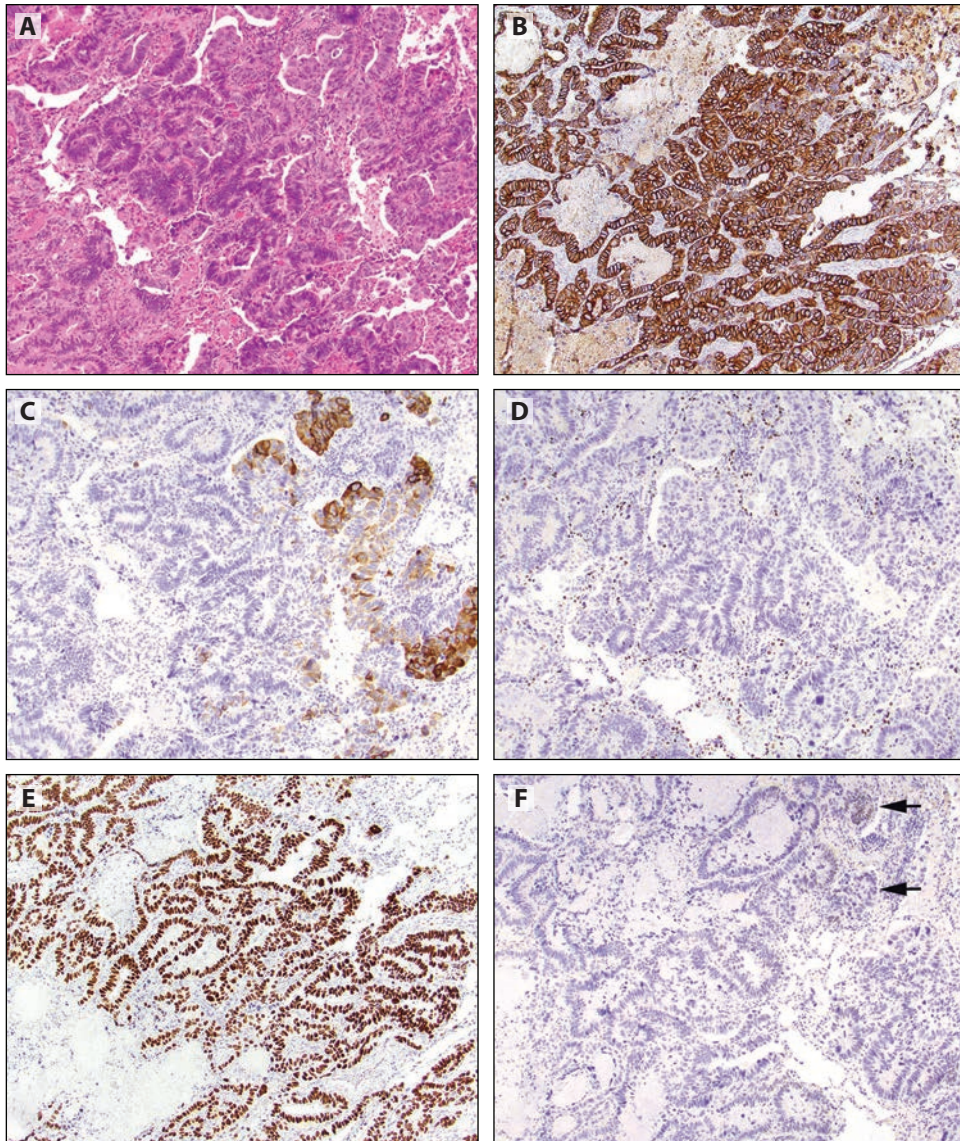
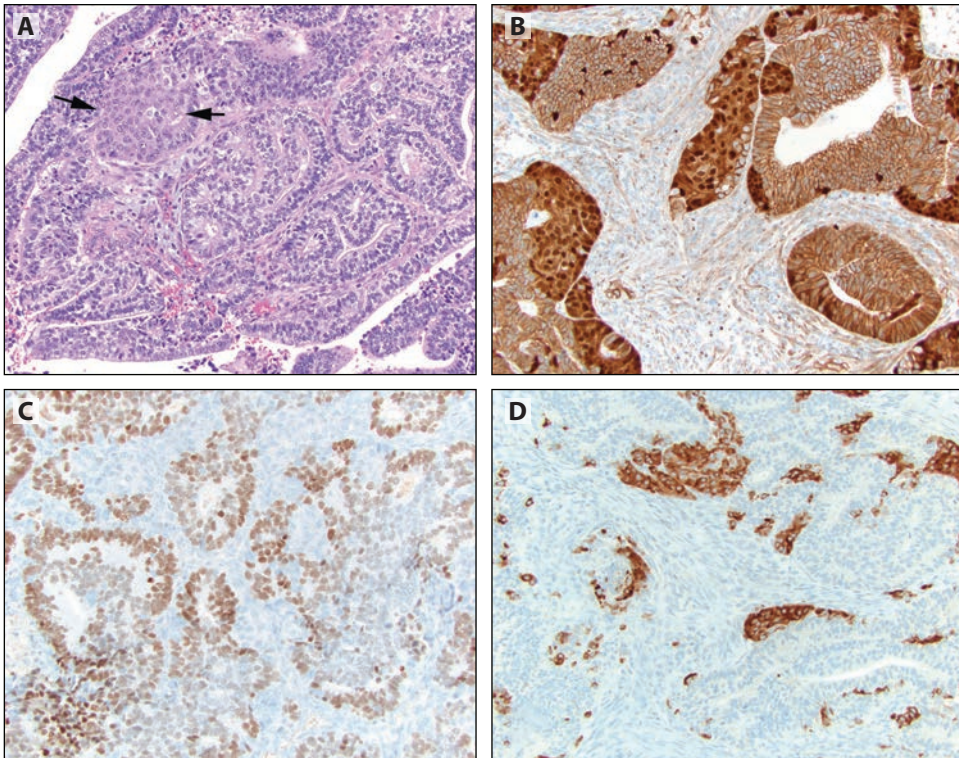


図13-4.腸管腺癌の一例。(A) 腫瘍は高色素性核を有する高さのある円柱細胞からなり、腺を形成します。管腔壊死も認められます。(B) ほとんどすべての腫瘍細胞はサイトケラチン7 (CK7)に反応しますが、(C) ごく一部の腫瘍細胞はCK20の発現を示し、(D) 甲状腺転写因子1 (TTF1)は捕捉された肺細胞のみを強調し、腫瘍細胞は強調しません。(E) 大部分の腫瘍細胞はCDX2にも反応しますが、(F、矢印) ごく一部の腫瘍細胞のみがSATB2の弱い発現を示します。CK7およびSATB2のこの発現パターンは、肺原発腫瘍と一致します。

### 低悪性度および高悪性度の胎児性肺腺癌の免疫プロファイルとは？

低悪性度の胎児性腺癌はTTF1を発現し、 $\beta$ -カテニンの異常な核局在を示し、通常はmoruleに見られますが、高悪性度のもものでは $\beta$ -カテニンの細胞質膜染色が維持されており、TTF1発現は高悪性度腫瘍の約50%にしか見られません(図13-5および13-6)。低悪性度腫瘍の90%以上がシナプトフィジンおよび/またはクロモグラニンに免疫反応を示す神経内分泌細胞を有するのに対し、高悪性度腫瘍でそのような細胞が認められるのはわずか約50%に過ぎません(2002年、2004年Nakatani氏他、2013年Morita氏他、2015年Suzuki氏他)。興味深いことに、高悪性度の胎児性腺癌は、たとえば $\alpha$ -フェ





**図13-5.(A、矢印)** 低悪性度胎児性肺腺癌の一例。グリコーゲンに富む非繊毛細胞からなる複雑な腺構造と、**(B)**  $\beta$ -カテニンの核内発現に関連するmorule形成を特徴としています。**(C)** ほとんどの腫瘍細胞はさまざまな強度の甲状腺転写因子1 (TTF1) 核染色を示し、**(D)** シナプトフィジンは腫瘍内の神経内分泌細胞の散在するクラスターを強調しています。腫瘍細胞はエストロゲン受容体 (ER)、プロゲステロン受容体 (PR)、PAX8が陰性でした (図示なし)。

トプロテイン、グリピカン3、および/またはSal様タンパク質4 (SALL4: Sal-like protein 4) などの癌胎児性タンパク質をしばしば発現します (2013年Morita氏他、2015年Suzuki氏他)。低悪性度、高悪性度ともに、子宮内膜腺癌で一般的に見られるような、ER、プロゲステロン受容体 (PR)、PAX8に対する免疫反応は見られません。

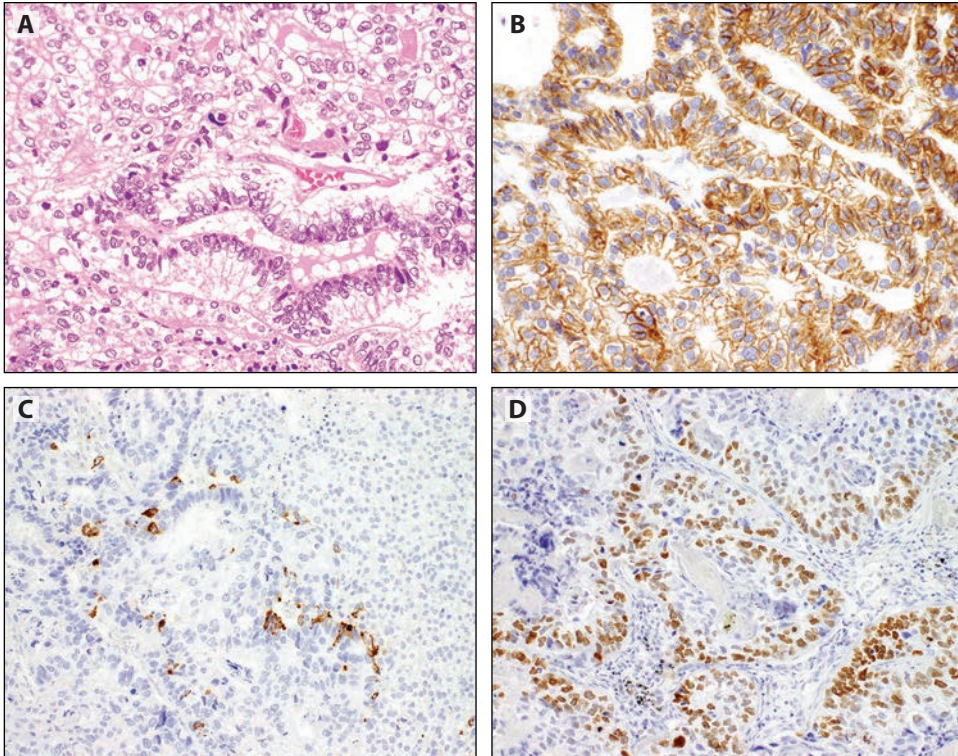
### まとめの回答

低悪性度の胎児性腺癌は  $\beta$ -カテニンの核局在異常を特徴とし、典型的にはmoruleに認められますが、高悪性度の胎児性腺癌は  $\alpha$ -フェトプロテイン、グリピカン3、および/またはSALL4などの癌胎児性タンパク質をしばしば発現します。さらに、TTF1およびPAX8などのIHCのパネルは、胎児性肺腺癌を転移性子宮内膜腺癌と鑑別するために必要な場合があります。

### 結論

IHCのパネルは、肺コロイド腺癌や腸型肺腺癌の診断 (CK7、CK20、TTF1、ナプシンA、CDX2、SATB2) や、胎児性腺癌と転移性子宮内膜腺癌の鑑別 (TTF1、PAX8) に有用である一方、IMAと膵胆管や上部消化管の部位からの転移との鑑別は、形態やIHCだけでは極めて困難です。逆に、TTF1、p40、および/またはHNF4 $\alpha$ を用いたIHC





**図13-6.(A)** 高悪性度胎児性肺腺癌。グリコーゲンを多く含む非繊毛細胞で、顕著な核異型性を有し、形態を持たない複雑な腺構造を形成しています。**(B)**  $\beta$ -カテニンの発現は細胞質の膜状に維持されています。**(C)** クロモグラニンAは散在する神経内分泌細胞を強調し、**(D)** SALL4の発現は腫瘍細胞の一部にも見られる一方で、エストロゲン受容体(ER)、プロゲステロン受容体(PR)、PAX8(図示なし)の発現は認められません。(画像提供: Yukio Nakatani博士)

は、病変組織が限定されている場合、または非悪性腫瘍が鑑別診断に含まれる場合には、IMAの診断に有用であると考えられます。

## 参考文献

- Bian T, Zhao J, Feng J, et al. Combination of cadherin-17 and SATB homeobox 2 serves as potential optimal makers for the differential diagnosis of pulmonary enteric adenocarcinoma and metastatic colorectal cancer. *Oncotarget*. 2017;8(38):63442-63452.
- Calio A, Lever V, Rossi A, et al. Increased frequency of bronchiolar histotypes in lung carcinomas associated with idiopathic pulmonary fibrosis. *Histopathology*. 2017;71(5):725-735.
- Chang JC, Montecalvo J, Borsu L, et al. Bronchiolar adenoma: expansion of the concept of ciliated mucinodular papillary tumors with proposal for revised terminology based on morphologic, immunophenotypic, and genomic analysis of 25 cases. *Am J Surg Pathol*. 2018;42(8):1010-1026.
- Gu L, Wang XZ, Wen W, et al. Clinical analysis of 23 patients pathologically diagnosed with primary and secondary pulmonary enteric adenocarcinoma. *Chin Med J (Engl)*. 2019;132(11):1368-1369.
- Jurmeister P, Scholer A, Arnold A, et al. DNA methylation profiling reliably distinguishes pulmonary enteric adenocarcinoma from metastatic colorectal cancer. *Mod Pathol*. 2019;32(6):855-865.
- Lin D, Zhao Y, Xing X. Pulmonary enteric adenocarcinoma with villin brush border immunoreactivity: a case report and literature review. *J Thorac Dis*. 2013;5(1):E17-20.
- Lu YW, Yeh YC. Ciliated mucinodular papillary tumors of the lung. *Arch Pathol Lab Med*. 2019;143(1):135-139.
- Masai K, Tsuta K, Motoi N, et al. Clinicopathological, immunohistochemical, and genetic features of primary lung adenocarcinoma occurring in the setting of usual interstitial pneumonia pattern. *J Thorac Oncol*. 2016;11(12):2141-2149.
- Matsushima J, Yazawa T, Suzuki M, et al. Clinicopathological, immunohistochemical, and mutational

analysis of pulmonary enteric adenocarcinoma: usefulness of SATB2 and  $\beta$ -catenin immunostaining for differentiation from metastatic colorectal carcinoma. *Hum Pathol.* 2017;64:179-185.

Morita S, Yoshida A, Goto A, et al. High-grade lung adenocarcinoma with fetal lung-like morphology clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular analysis of 17 cases. *Am J Surg Pathol.* 2013;37(6):924-932.

Nakatani Y, Masudo K, Miyagi Y, et al. Aberrant nuclear localization and gene mutation of beta-catenin in low-grade adenocarcinoma of fetal lung type: up-regulation of the Wnt signaling pathway may be a common denominator for the development of tumors that form morules. *Mod Pathol.* 2002;15(6):617-624.

Nakatani Y, Miyagi Y, Takemura T, et al. Aberrant nuclear/cytoplasmic localization and gene mutation of beta-catenin in classic pulmonary blastoma: beta-catenin immunostaining is useful for distinguishing between classic pulmonary blastoma and a blastomatoid variant of carcinosarcoma. *Am J Surg Pathol.* 2004;28(7):921-927.

Rossi G, Murer B, Cavazza A, et al. Primary mucinous (so-called colloid) carcinomas of the lung: a clinicopathologic and immunohistochemical study with special reference to CDX-2 homeobox gene and MUC2 expression. *Am J Surg Pathol.* 2004;28(4):442-452.

Sugano M, Nagasaka T, Sasaki E, et al. HNF4 $\alpha$  as a marker for invasive mucinous adenocarcinoma of the lung. *Am J Surg Pathol.* 2013;37(2):211-218.

Suzuki M, Yazawa T, Ota S, et al. High-grade fetal adenocarcinoma of the lung is a tumour with a fetal phenotype that shows diverse differentiation, including high-grade neuroendocrine carcinoma: a clinicopathological, immunohistochemical and mutational study of 20 cases. *Histopathology.* 2015;67(6):806-816.

Travis WD, Brambilla E, Burke AP, et al. *WHO Classification of the Lung, Pleura, Thymus and Heart.* 4th ed. International Agency for Research on Cancer (IARC) Press; 2015.

Yatabe Y, Dacic S, Borczuk AC, et al. Best practices recommendations for diagnostic immunohistochemistry in lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2019;14(3):377-407.

Zenali MJ, Weissferdt A, Solis LM, et al. An update on clinicopathological, immunohistochemical, and molecular profiles of colloid carcinoma of the lung. *Hum Pathol.* 2015;46(6):836-842.

Zhang J, Xiang C, Han Y, et al. Differential diagnosis of pulmonary enteric adenocarcinoma and metastatic colorectal carcinoma with the assistance of next-generation sequencing and immunohistochemistry. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2019;145(1):269-279.

# 他の希少腫瘍のための免疫マーカー

# 14

執筆者: Anja C. Roden, Yuko Minami

## はじめに

前章ですでに述べた多数の腫瘍とは別に、他の稀な原発腫瘍が胸部で発生し、その種類は気管支腺腫などの良性病変から、精巣核タンパク質 (NUT) 癌や唾液型腫瘍などの悪性腫瘍にまで及びます。それらの診断を適時に行うことは、患者の治療と管理のために重要であり、これらの腫瘍のサブセットにおいては、臨床試験への早期登録のためにも重要である (例: NUT癌の治療のためのプロモドメイン繰り返し配列および特異的末端配列[BET: bromodomain and extra-terminal]ドメインファミリー阻害剤 (2019年Salati氏他)。肺腺腫や硬化性血管腫などのこれらの腫瘍の一部は、主にヘマトキシリン・エオジン (H&E: hematoxylin and eosin) で診断されますが、特に小さな生検において診断を確立するため、またはH&E印象を確認するために、免疫染色が必要となるものもあります。さらに、一部の腫瘍は形態的に模倣しているものと区別するのが難しい場合があります。腺癌は、肺胞腺腫、硬化性血管腫、細気管支腺腫／線毛性粘液結節性乳頭状腫瘍 (CMPT: ciliated muconodular papillary tumor) の鑑別診断でよく見られます。これらの腫瘍の一部は、遺伝的变化によって定義されます (表14-1)。しかし、免疫組織化学 (IHC: Immunohistochemistry) が、状況によっては役割を果たすことができます。

## IHCは肺胞腺腫の診断に役立つのか?

甲状腺転写因子-1 (TTF1: Thyroid transcription factor-1)、パンケラチン、上皮膜抗原 (EMA: epithelial membrane antigen)、サーファクタントタンパク質A (SP-A: surfactant protein A) は、嚢胞を満たし紡錘体に富む間質を覆っている無菌性の、立方体状の、または平坦なII型肺細胞の単一層を強調します (図14-1B、矢印)。これらの間質細胞 (図14-B、矢頭) は、CD34と、場合によってはS100および平滑筋アクチン (SMA: smooth muscle actin) を発現する場合があります。肺胞腺腫は通常はH&E診断で確認しますが、IHCを使用して診断を確認したり、肺胞腺腫をケラチン陽性の嚢胞内層細胞がないリンパ管腫や硬化性血管腫と区別したりする場合があります。TTF1が嚢胞内層細胞のみを染色す



表14-1: 稀な胸腔腫瘍に非常に特異的な遺伝子変異

腫瘍	遺伝子変異	遺伝子変異を伴う腫瘍 (%)	癌遺伝子に対する抗体
気管支肺粘膜表皮癌	t(11;19)(q21;p13) CRCT1-MAML2 <sup>a</sup>	67~100	無し
NUT癌	T(15;19)(q14;p13.1) BRD4-NUT <sup>b</sup> <i>BRD3-NUT</i> 他の非BRD含有遺伝子 (例: NDSD3, ZNF532) とのNUT変異融合 <sup>c</sup>	70~86 (BRD4-NUT)	NUT (クローンC52B1)
腺様嚢胞癌 <sup>d</sup>	t(6;9)(q22-23;p23-24) MYB-NFIB	41~50	MYB (59%) <sup>e</sup>

略語: BRD=BETドメイン含有タンパク質 (bromodomain and extra-terminal (BET) domain containing protein)、MYB=骨髄芽球症プロトオンコジーン (myeloblastosis proto-oncogene) 転写因子、NUT=精巣核タンパク質 (nuclear protein in testis)。

<sup>a</sup>2014年Roden氏他、2009年Achar Rd氏他、2015年Huo氏他。

<sup>b</sup>2003年French氏他、2016年Chau氏他。

<sup>c</sup>2014年French氏他、2017年Alekseyenko氏他。

<sup>d</sup>2015年Roden氏他、2011年Brill氏他。

<sup>e</sup>2017年Vallonthaie氏他、2017年Poling氏他。

る肺腺腫とは対照的に、硬化性血管腫では、管腔細胞と間質細胞の両方がTTF1を発現させます (「免疫マーカーは、硬化性血管腫と腺癌を区別するのに有効であるのか?」の節を参照のこと)。(2007年Sak氏他、1999年Burke氏他、2012年De Rosa氏他)。

## まとめの回答

主にH&E診断においてですが、IHCは、腫瘍性肺細胞および肺腺腫の間葉系間質を強調するのに有効です (図14-1)。

## CMPTの診断において、p40 IHCは腺癌と区別する役割を果たしているか?

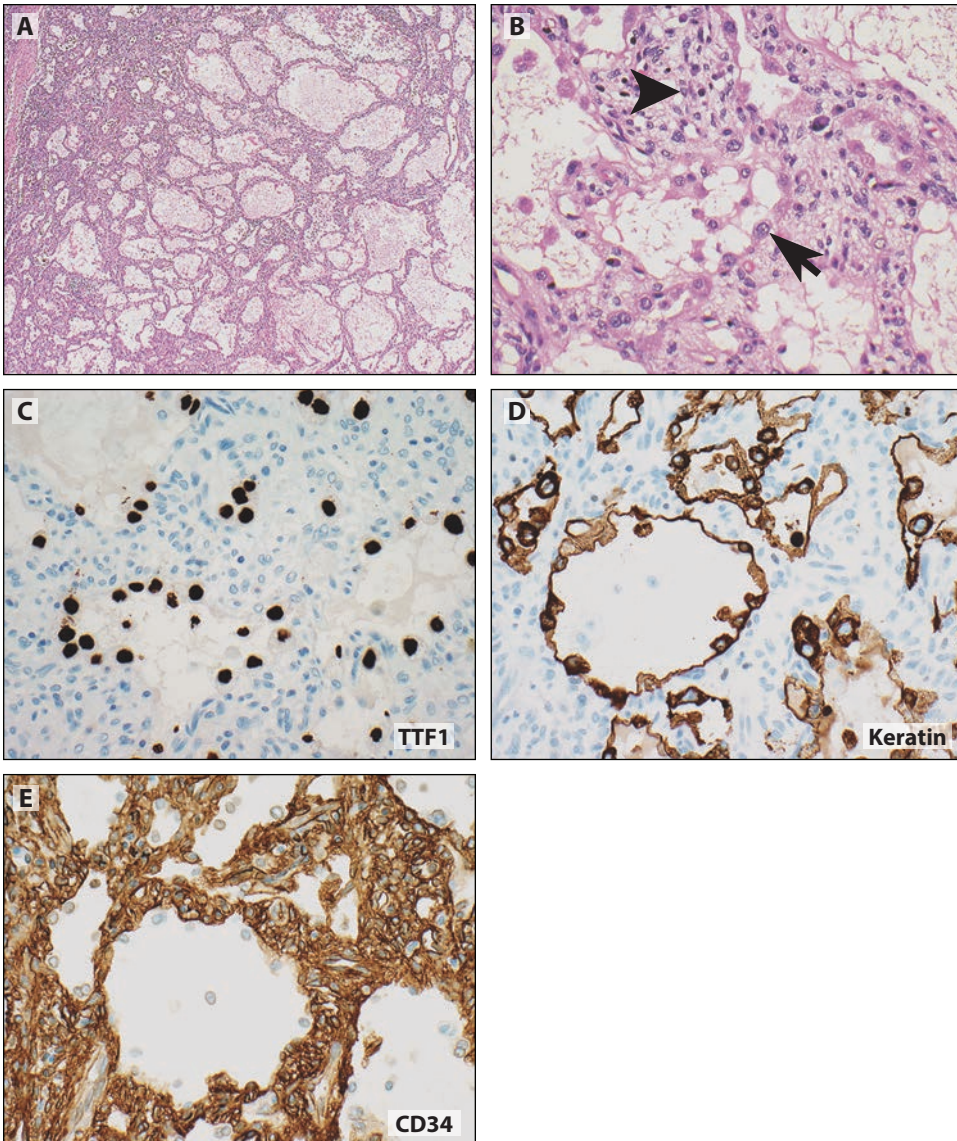
扁平上皮の分化に関連する基底細胞マーカー (p40、p63、サイトケラチン5/6 (CK5/6: cyto-keratin 5/6) など) は、病変した柱状細胞の下にある基底細胞の無傷の層 (図14-2B、矢印) を強調し、基底細胞層がない腺癌とCMPTを区別するのに有効となっています。Ki-67は低い増殖指数を示し、CMPTでは腫瘍細胞核の染色率が1%未満から5%未満、単一症例として10%が報告されています (2019年Lu氏およびYeh氏、2019年Shao氏他、2018年Kataoka氏他)。MUC5ACおよびEMAは繊毛細胞で不均質に発現します。肺腺癌と同様に、CMPTでは基底細胞の内腔にある線毛円柱細胞 (図14-2B、矢頭) や杯細胞がCK7を発現し、ほとんどがTTF1にも陽性であるのに対し、CK20、CDX2、ナプシンAは一般的に陰性であるため、CK7、CK20、TTF1、ナプシンA、CDX2は通常その区別には役立ちません (2019年Shao氏他、2019年Kashima氏他、2019年Lu氏およびYeh氏)。

## まとめの回答

p40、p63、CK5/6などの基底細胞マーカーは、CMPT内の二重上皮細胞層を識別するのに役立ちます (図14-2)。

## NUT癌の免疫プロファイルとは?

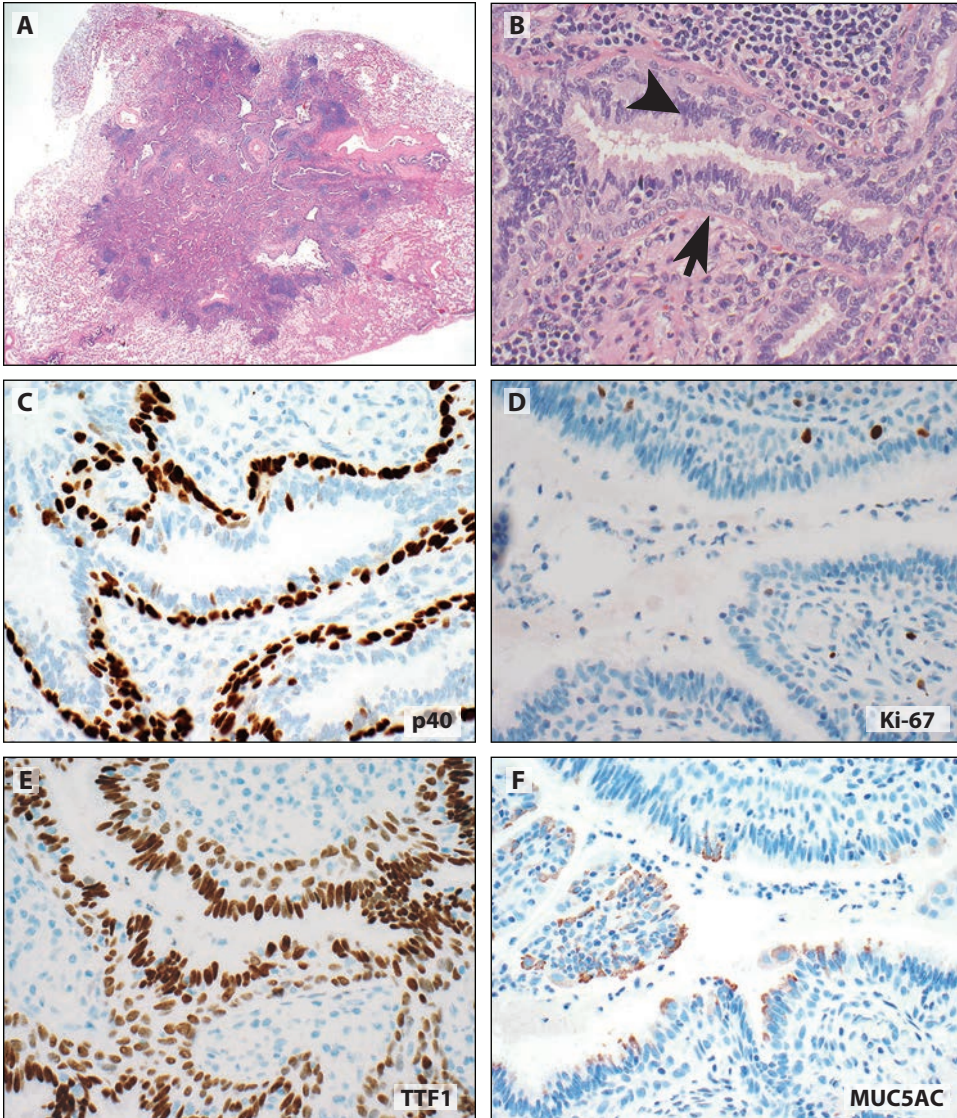
NUT癌のサブセットは、ケラチン、扁平上皮分化のマーカー、およびその他のマーカーに対して陰性となる場合があります (図14-3A-D)。ただし、これらの腫瘍の多くでは、パンケラチン (77%)、OSCARケラチン、CK7などのさまざまなケラチン、およびp40、p63



**図14-1**: 肺胞腺腫。(A) 低出力での肺胞腺腫の嚢胞性の外観、(B) 空間を覆うホブネイル細胞 (矢印) と相まって、間質の組織構造 (矢頭) にもかかわらず、リンパ管腫または硬化性血管腫との鑑別を容易にする可能性があります。(C) TTF1および (D) サイトケラチンの染色は、表層細胞の肺細胞分化を強調します。(E) 間質細胞はTTF1陰性ですが、CD34陽性であることがよくあります。倍率 (A) H&E,  $\times 40$ 、(B) H&E,  $\times 400$ 、(C) TTF1 (クローンSPT24),  $\times 400$ 、(D) パンケラチン (クローンAE1/AE3),  $\times 400$ 、(E) CD34,  $\times 400$ 。

(90%)、CK5/6などの扁平上皮分化に関連するマーカーが少なくとも限局的に発現しています。これらの腫瘍はTTF1を発現し、時にはp63などを発現している同じ腫瘍細胞内でNUT癌であることを示唆する集団を発現している場合があるが、これは低分化型腺癌でも見られます (第8章参照)。一部のNUT癌は、EMA (75%)、CD34、CD99も発現します (2012年Evans氏他)。陽性のNUT IHCで十分に診断を下すことができませんが、NUTの再配列は、蛍光in situハイブリダイゼーション (FISH: fluorescence in situ hybridization) または逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR: reverse-transcriptase polymerase chain reaction) によって確認できます (図14-4) (2012年French氏)。





**図14-2：肺線毛性粘液結節性乳頭状腫瘍 (A)** これらの腫瘍は漠然と外接しているように見えますが、低倍率ではカプセル化されておらず、**(B)** 上皮細胞が並ぶ空間 (矢頭) があり、二重層 (矢印) になっています。  
**(C)** これは、p40を染色することで強調できます。表層細胞は、低い**(D)** Ki-67インデックスを持ち、**(E)** TTF1に対して陽性である必要があります。絨毛細胞はMUC5AC陽性である場合があります。倍率**(A)** H&E,  $\times 12.5$ 、**(B)** H&E,  $\times 400$ 、**(C)** p40,  $\times 400$ 、**(D)** Ki-67,  $\times 400$ 、**(E)** TTF1 (クローンSPT24),  $\times 400$ 、**(F)** MUC5AC,  $\times 400$ 。

### まとめの回答

NUTの発現以外にも、ケラチンと基底細胞マーカーがしばしば発現しますが、TTF1とEMAも見られることがあります。

### NUT癌のNUT発現のパターンはどのようなものか？

#### まとめの回答

腫瘍細胞の50%以上に見られる核スペckルパターンは、NUT癌の特徴であり、診断に役立ちます (2009年Haack氏他、2018年French氏) (図14-4)。NUT免疫染色は感度が高く (87%)、特異的です (精上皮腫の除外後は100% [French氏, 2018年])。



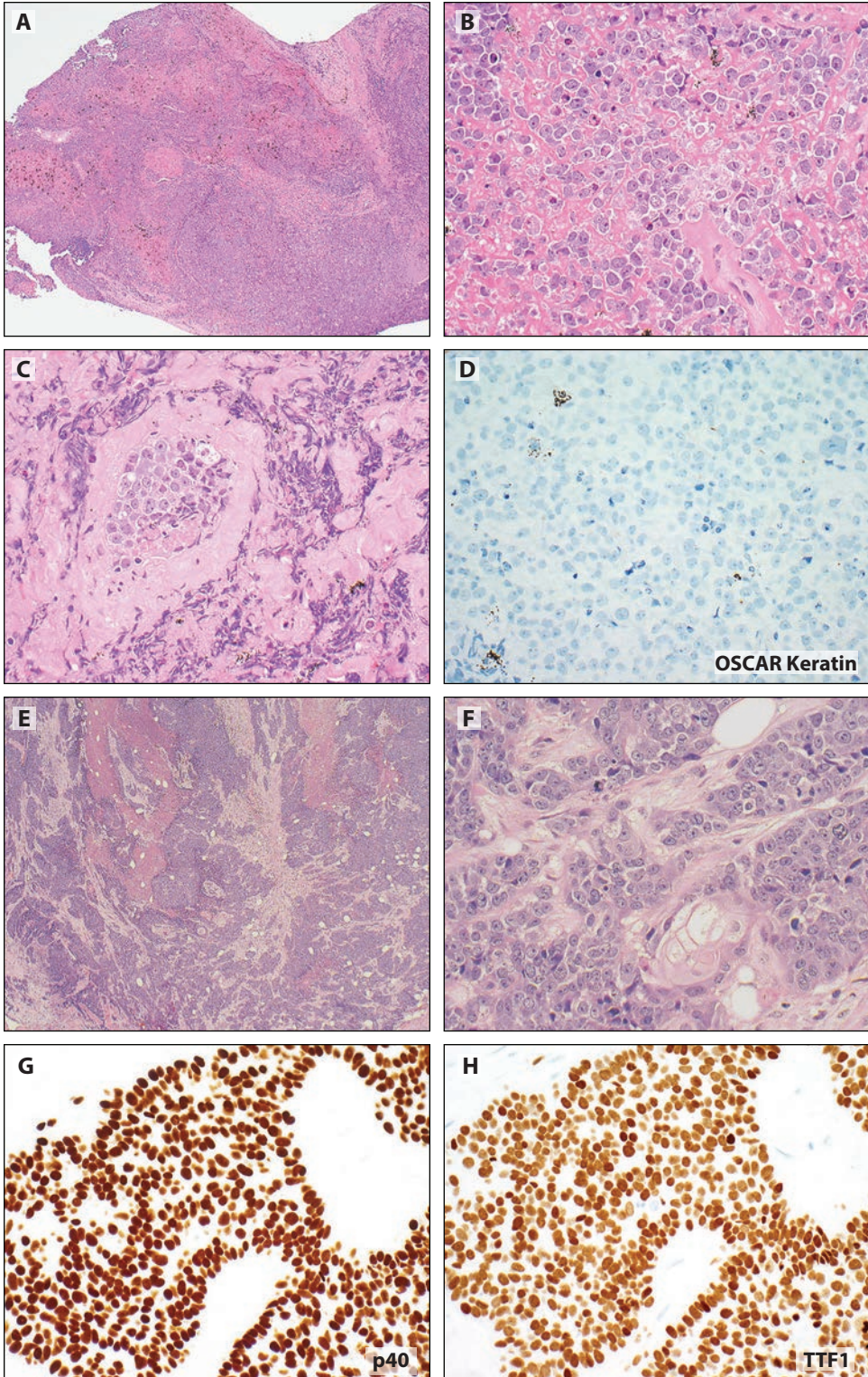


図14-3: NUT癌。(A) この細胞腫瘍は、(EおよびF) ヒアリン化間質、壊死、限局性扁平上分化の領域を持つ非附着性の類上皮細胞を特徴としています。(C) サイトケラチンのIHCは限局性または陰性である場合がありますが、(GおよびH) p40とTTF1は同じ細胞内で二重陽性である場合があります。倍率 (AおよびE) H&E,  $\times 40$ 、(B, C, F) H&E,  $\times 400$ 、(D) ケラチン (クローンOSCAR),  $\times 400$ 、(G) p40,  $\times 400$ 、(H) TTF1 (クローンSPT24),  $\times 400$ 。



## 免疫マーカーは、硬化性血管腫と腺癌を区別するのに有効なのか？

H&E上で2つの異なる細胞集団、すなわち、形態的にも免疫表現型的にもII型肺胞上皮細胞に似ている表面の立方体細胞 (図14-5B、矢印) と間質円形細胞 (図14-5B、矢頭) を認識することは、診断およびその腫瘍を腺癌と区別するために重要です。これらの2つの細胞集団を異なる形で強調し、それにより腺癌との区別にも役立つマーカーは、パンケラチン (AE1/AE3)、ナプシンA、そして入手可能な場合は、表面細胞成分をほぼ選択的に強調するサーファクタントタンパク質 (SP-AおよびSP-B) マーカーなどがあります (表14-2)。Rodriguez-Soto氏他 (2000年) による研究では、ほとんどの場合、プロゲステロン受容体は円形の細胞成分のみを強調すると示されていますが、これは検証されてはいません。TTF1は両方の成分で発現し、硬化性血管腫の診断には全体的に有効である可能性があります

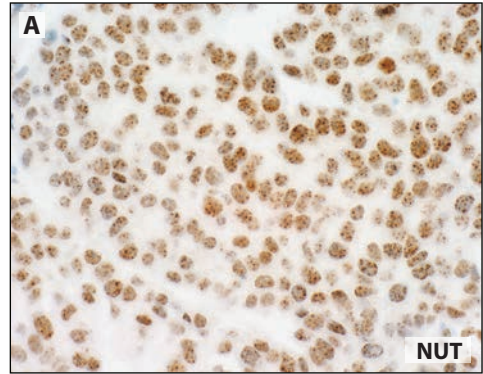


図14-4: NUT免疫組織化学。細胞の50%以上で核の染色が見られ、多くの場合斑点状のパターンをしている。(A) 倍率×600。

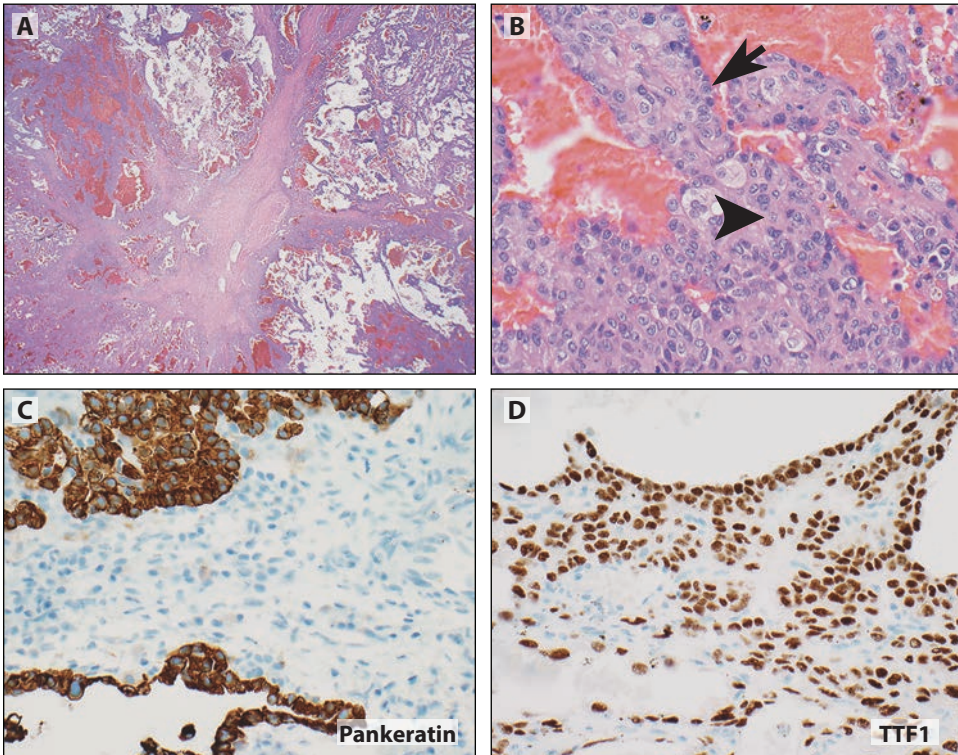


図14-5: 硬化性血管腫。(A) 低倍率の画像では、硬化症と乳頭状の構造が見られ、高倍率の画像 (B) では、間質性円形細胞集団 (矢頭) と上皮内層 (矢印) が見られます。(C) サイトケラチンへの染色は表層細胞においてのみ陽性となりますが、(D) TTF1は円形細胞と表層細胞の両方を強調します。倍率 (A) H&E, ×40、(B) H&E, ×400、(C) パンケラチン (クローンAE1/AE3)、×400、(D) TTF1 (クローンSPT24) ×400。

表14-2: 硬化性血管腫の細胞成分によって発現される抗原

抗体	表面立方細胞	間質円形細胞
	10%または1%以上の細胞が染色された症例(%) <sup>a</sup>	
TTF1	97 <sup>a</sup> ~100 <sup>b,c</sup>	92 <sup>a</sup> ~100 <sup>b,c</sup>
パンケラチン	100	1
CAM5.2	73	17
ケラチン903	0	0
CK7	100	31
Pro SP-A, p	92	0
Pro SP-B, p	100	0
ナプシンA	100 <sup>b</sup>	17 <sup>d</sup>

略語: CK7=サイトケラチン7 (cytokeratin 7)、SP-A=サーファクタントタンパク質A (surfactant protein A)、SP-B=サーファクタントタンパク質B (surfactant protein B)、TTF1=甲状腺転写因子1 (thyroid transcription factor-1)。

<sup>a</sup> クローンは提供されていません。

<sup>b</sup> 1%の細胞が染色されています。

<sup>c</sup> クローン8G7/G3/1。

<sup>d</sup> 細胞の1%~25%。

出典: 2000年Devouassoux-Shisheboran氏他、2012年Schmidt氏他。

が、肺腺癌との区別には役立ちません (2000年Devouassoux-Shisheboran氏他、2012年Schmidt氏他)。

## まとめの回答

免疫染色は、異なる免疫プロファイルを持つ2つの細胞内コンパートメントの識別を補助することで、硬化性血管腫の診断に役立つ場合があります。ケラチンおよびTTF1は、この区別において重要な役割を担っています (図14-5)。

## 唾液腺型腫瘍

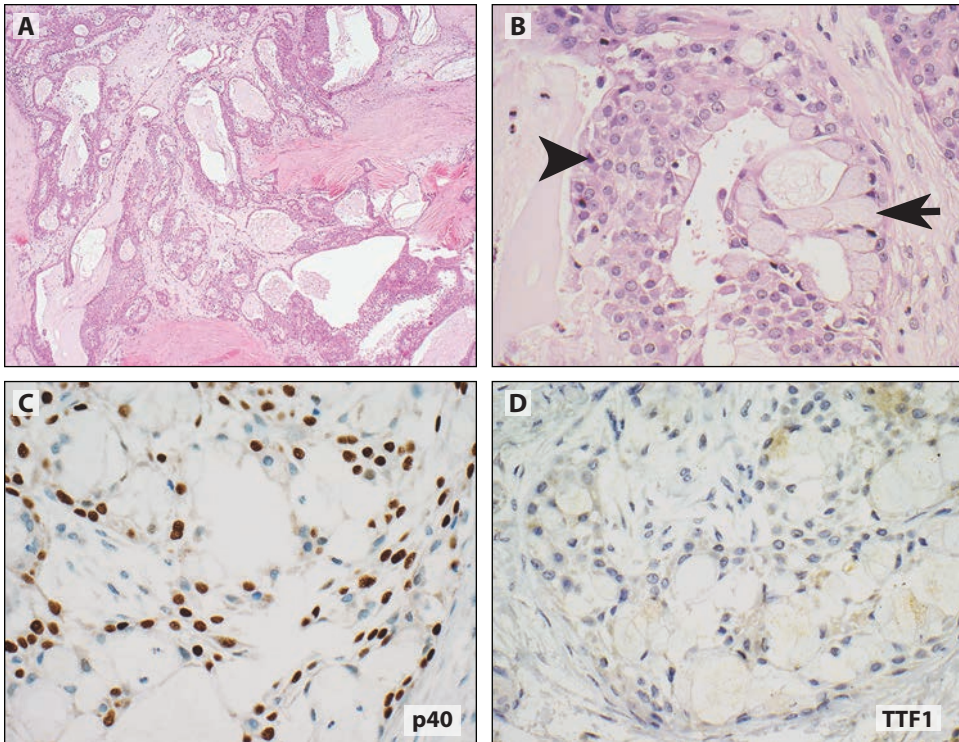
### 免疫マーカーは肺粘膜表皮癌の診断に役立つか?

悪性度が低い粘表皮癌の診断は、通常3つの細胞タイプ (粘液細胞 (図14-6B、矢印)、類表皮 (図14-6B、矢頭)、中間細胞) の存在を示すH&E染色および角質化されていないことに基づいて行われます。必要に応じて、MAML2の再配列を研究することで診断を確定する場合があります (表14-1)。小規模の生検または悪性度の高い粘表皮癌では、診断が困難である場合があります。このようなケースでは、p63、p40、CK5/6が細胞の類表皮サブセットを強調し、TTF1およびナプシンが陰性となるため、免疫染色が役立ちます (2014年Roden氏他、2015年Huo氏他)。ムシカルミンまたはアルシアンブルー/過ヨウ素酸シッフ反応 (PAS: periodic acid-Schiff) などの粘液染色を追加して、粘液細胞の細胞質ムチンを強調することができます。p40の感度は、肺粘表皮癌ではp63よりも低い可能性があります (2014年Roden氏他)。ここでも疑わしい場合は、診断を確立するためにMAML2の再配列の研究を行う必要があります (2014年Roden氏他、2015年Huo氏他)。

## まとめの回答

限られた用途ではありますが、p63、p40、CK5/6のIHCは、類表皮細胞成分を強調する場合があります (図14-6)。TTF1とナプシンは陰性でなければなりません。





**図14-6**: 粘表皮癌。低倍率において変化する嚢胞性および固形の胞巣状腫瘍 (A) は、高倍率においては、(B) 均一な類上皮集団 (矢頭) および粘液陽性細胞 (矢印) の両方を示します。(C) p40のIHCは細胞の亜母集団では陽性であり、二重集団であることが強調されていますが、(D) TTF1はこの腫瘍では陰性となっています。倍率 (A) H&E,  $\times 40$ 、(B) H&E,  $\times 400$ 、(C) p40,  $\times 400$ 、(D) TTF1,  $\times 400$ 。

### 免疫染色は、肺腺様嚢胞癌の診断および、非小細胞癌と小細胞癌の鑑別に有効か？

通常、H&E染色により腺様嚢胞癌の診断が可能となります (図14-7)。診断を確定するために、通常CD117およびEMAを発現する腺管/管腔細胞で免疫染色を行う場合があり、その際筋上皮/末梢細胞はp63、S100、SMA、筋肉特異的アクチン (MSA: muscle specific actin)、カルポニンに対して陽性となります (2015年Rodén氏他、2014年Namboodiripad氏)。ケラチンは両方の細胞成分で発現しているため、これら2つの細胞成分の区別には役立ちません。CD117、p63、S100は、2つの異なる細胞集団を区別して強調するため、固形パターンや小規模な生検などの困難な症例の診断を確立するのに役立つ場合があります。しかし、腺様嚢胞癌の鑑別診断における他の肺癌は、少なくとも限局的に、これらのマーカーも発現する可能性があります。MYB遺伝子再構成研究やMYBタンパク質免疫染色は、症例のサブセットで役立つ可能性がありますが、後者はさらに大規模な研究で検証する必要があります (表14-1) (2015年Rodén氏他、2011年Brill氏他、2017年Vallonthaiel氏他、2017年Poling氏他)。

### まとめの回答

粘表皮癌と同様に、腺様嚢胞癌の診断は通常、H&E染色に基づいて行われます。ただし、CD117が腺管/管腔細胞を強調し、p63およびS100が筋上皮/末梢細胞を染色する場合、IHCは、特に形態学的に困難なサンプルにおいて、双対胞体集団の特定に役立つ可能性があります。

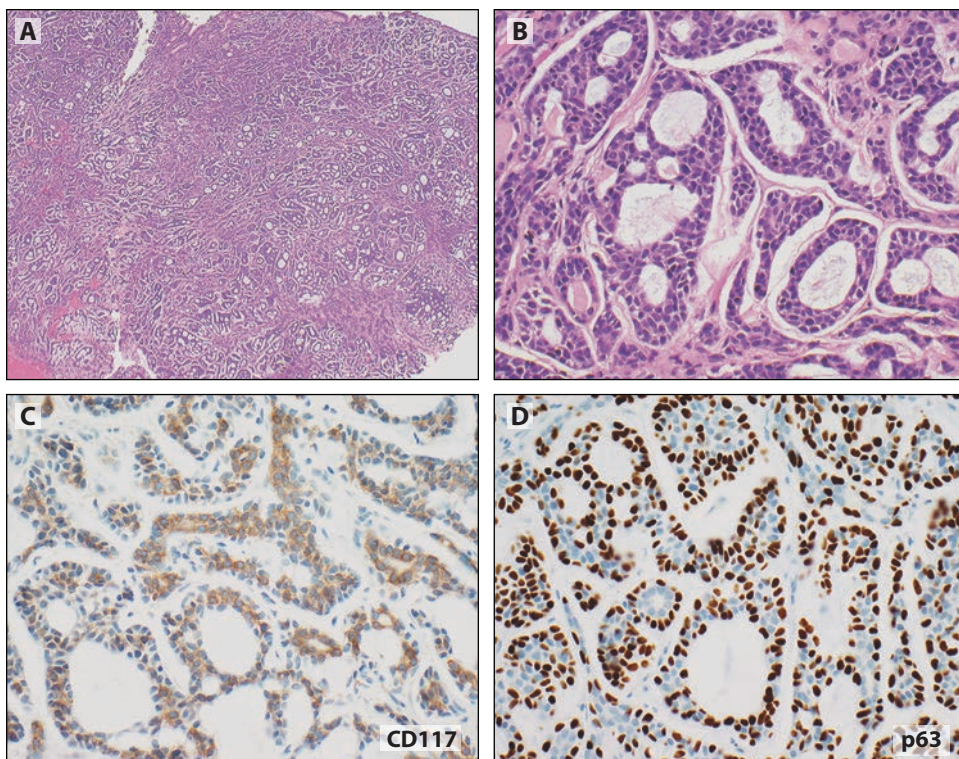


図14-7：腺様嚢胞癌。(A) この細胞性腫瘍は、(B) 二重被覆を持つ古典的で整った腺状構造を持ち、(C) および(D) CD117およびp63染色で強調されています。倍率 (A) H&E,  $\times 40$ 、(B) H&E,  $\times 400$ 、(C) CD117,  $\times 400$ 、(D) p63,  $\times 400$ 。

### 免疫染色は、肺の上皮筋上皮癌の診断に有効か？

上皮筋上皮癌は、ケラチンに対して陽性の上皮細胞 (図14-8B-E、矢印) と、p63、p40、S100、SMA、MSAに対して陽性かつ、ケラチン、CD117、グリア細胞線維性酸性タンパク質 (GFAP: glial fibrillary acidic protein) に対して弱陽性の筋上皮細胞 (図14-8B-E、矢頭) の2つの細胞集団で構成されています (2015年Dimitrijevic氏他、2019年Guleria氏他)。まれに、上皮細胞がTTF1およびSP-A (いわゆる肺細胞腺筋上皮腫[Chang氏他、2007年]) を発現します。p63、S100、ケラチン、CD117、ムチンは、この腫瘍を粘表皮癌と区別するのに役立ちます。ただし、免疫プロファイルが類似しているため、腺様嚢胞癌との区別が難しい場合があります (図14-8)。

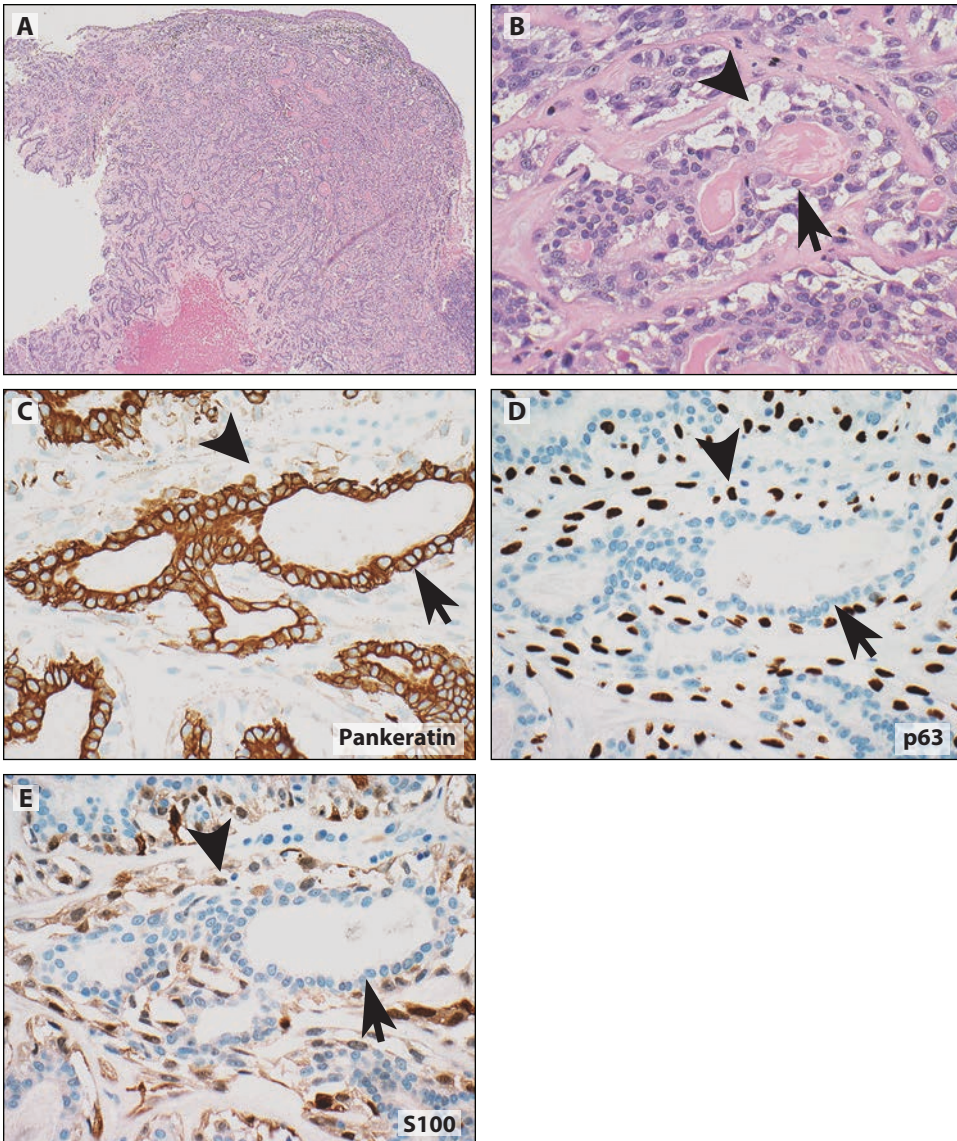
### まとめの回答

他の唾液型腫瘍と同様に、IHCの役割は、H&E染色切片の適切な形態学的状況の中で病変を定義するさまざまな細胞集団の特定を助けることのみとなります。

### 結論

稀な胸腔腫瘍において、IHCはより一般的な腫瘍との鑑別診断では最も有効となります。必然的に、ほとんどの病理医はこのような稀な疾患に精通していないため、IHCに助けを求め、裏付けとなる証拠を求めることとなります。稀な胸腔腫瘍の一部は2つ以上の細胞成分で構成されており、通常は切除標本のH&Eで識別できますが、小規模な生検、悪性度の高い腫瘍、または成長パターンが堅固である場合は識別が困難な場合があ





**図14-8**: 上皮筋上皮癌。(A) このびまん性腺形成腫瘍は、(B) 二層細胞集団を持ち、内側の層は上皮細胞を示し(矢印)、(B) 外側の層(矢頭)は筋上皮細胞と一致する透明な細胞を示しています。(C) パンケラチンは管腔集団(矢印)を染色しますが、基底集団(矢頭)は染色しません。一方、(D) p63および(E) S100は基底集団(矢頭)を強調しますが、管腔集団(矢印)は染色しません。倍率 (A) H&E,  $\times 40$ 、(B) H&E,  $\times 400$ 、(C) パンケラチン,  $\times 400$  (クローン AE1/AE3)、(D) p63,  $\times 400$ 、(E) S100,  $\times 400$ 。

ります。さらに、唾液腺型腫瘍やNUT癌など、これらの腫瘍の多くは胸部に特有のものではなく、体の他の部位でも見られます。これらの腫瘍の免疫表現型は他の部位で発生するものと同一であるため、転移性疾患は臨床放射線学的な相互関係によって除外しなければなりません。その区別に役立つ肺または胸部に固有のマーカーはありません。



## 参考文献

- Achcar Rde O, Nikiforova MN, Dacic S, et al. Mammalian mastermind like 2 11q21 gene rearrangement in bronchopulmonary mucoepidermoid carcinoma. *Hum Pathol*. 2009;40(6):854-860.
- Alekseyenko AA, Walsh EM, Zee BM, et al. Ectopic protein interactions within BRD4-chromatin complex drives oncogene megadomain formation in NUT midline carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017;114(21):E4184-E4192.
- Brill LB 2nd, Kanner WA, Fehr A, et al. Analysis of MYB expression and MYB-NFIB gene fusions in adenoid cystic carcinoma and other salivary neoplasms. *Mod Pathol*. 2011;24(9):1169-1176.
- Burke LM, Rush WI, Khor A, et al. Alveolar adenoma: a histochemical, immunohistochemical, and ultrastructural analysis of 17 cases. *Hum Pathol*. 1999;30(2):158-167.
- Chang T, Husain AN, Colby T, et al. Pneumocytic adenomyoepithelioma: a distinctive lung tumor with epithelial, myoepithelial, and pneumocytic differentiation. *Am J Surg Pathol*. 2007;31(4):562-568.
- Chau NG, Hurwitz S, Mitchell CM, et al. Intensive treatment and survival outcomes in NUT midline carcinoma of the head and neck. *Cancer*. 2016;122(23):3632-3640.
- De Rosa N, Maiorino A, De Rosa I, et al. CD34 expression in the stromal cells of alveolar adenoma. *Case Rep Med*. 2012;9:13517.
- Devouassoux-Shisheboran M, Hayashi T, Linnoila RI, et al. A clinicopathologic study of 100 cases of pulmonary sclerosing hemangioma with immunohistochemical studies: TTF1 is expressed in both round and surface cells, suggesting an origin from primitive respiratory epithelium. *Am J Surg Pathol*. 2000;24(7):906-916.
- Dimitrijevic MV, Tomanovic NR, Jesic SD, et al. Epithelial-myoeplithelial carcinoma—a review of clinicopathological and immunohistochemical features. *Arch Iran Med*. 2015;18(4):218-222.
- Evans AG, French CA, Cameron MJ, et al. Pathologic characteristics of NUT midline carcinoma arising in the mediastinum. *Am J Surg Pathol*. 2012;36(8):1222-1227.
- French CA. NUT carcinoma: clinicopathological features, pathogenesis, and treatment. *Pathol Int*. 2018;68(11):583-595.
- French CA. Pathogenesis of NUT midline carcinoma. *Annu Rev Pathol*. 2012;7:247-265.
- French CA, Miyoshi I, Kubonishi I, et al. BRD4-NUT fusion oncogene: a novel mechanism in aggressive carcinoma. *Cancer Res*. 2003;63(2):304-307.
- French CA, Rahman S, Walsh EM, et al. NSD3-NUT fusion oncoprotein in NUT midline carcinoma: implications for a novel oncogenic mechanism. *Cancer Discov*. 2014;4(8):928-941.
- Guleria P, Madan K, Kumar S, et al. Pulmonary epithelial myoepithelial carcinoma with papillary architecture: an uncommon morphology of a rare tumor. *Pathology*. 2019;51(4):443-445.
- Haack H, Johnson LA, Fry CJ, et al. Diagnosis of NUT midline carcinoma using a NUT-specific monoclonal antibody. *Am J Surg Pathol*. 2009;33(7):984-991.
- Huo Z, Wu H, Li J, et al. Primary pulmonary mucoepidermoid carcinoma: histopathological and molecular genetic studies of 26 cases. *PLoS One*. 2015;10(11):e0143169.
- Kashima J, Hishima T, Tonooka A, et al. Genetic and immunohistochemical analysis of ciliated muconodular papillary tumors of the lung: a report of five cases. *SAGE Open Med Case Rep*. 2019;7:e2050313X19830483.
- Kataoka T, Okudela K, Matsumura M, et al. A molecular pathological study of four cases of ciliated muconodular papillary tumors of the lung. *Pathol Int*. 2018;68(6):353-358.
- Lu YW, Yeh YC. Ciliated muconodular papillary tumors of the lung. *Arch Pathol Lab Med*. 2019;143(1):135-139.
- Namboodiripad PC. A review: immunological markers for malignant salivary gland tumors. *J Oral Biol Craniofac Res*. 2014;4(2):127-134.
- Poling JS, Yonescu R, Subhawong AP, et al. MYB labeling by immunohistochemistry is more sensitive and specific for breast adenoid cystic carcinoma than MYB labeling by FISH. *Am J Surg Pathol*. 2017;41(7):973-979.
- Roden AC, Garcia JJ, Wehrs RN, et al. Histopathologic, immunophenotypic and cytogenetic features of pulmonary mucoepidermoid carcinoma. *Mod Pathol*. 2014;27(11):1479-1488.
- Roden AC, Greipp PT, Knutson DL. Histopathologic and cytogenetic features of pulmonary adenoid cystic carcinoma. *J Thorac Oncol*. 2015;10(11):1570-1575.
- Rodriguez-Soto J, Colby TV, Rouse RV. A critical examination of the immunophenotype of pulmonary sclerosing hemangioma. *Am J Surg Pathol*. 2000;24(3):442-450.
- Sak SD, Koseoglu RD, Demirag F, et al. Alveolar adenoma of the lung. Immunohistochemical and flow cytometric characteristics of two new cases and a review of the literature. *APMIS*. 2007;115(12):1443-1449.

Salati M, Baldessari C, Bonetti LR, et al. NUT mid-line carcinoma: current concepts and future perspectives of a novel tumour entity. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2019;144:102826.

Schmidt LA, Meyers JL, McHugh JB. Napsin A is differentially expressed in sclerosing hemangiomas of the lung. *Arch Pathol Lab Med*. 2012;136(12):1580-1584.

Shao K, Wang Y, Xue Q, et al. Clinicopathological features and prognosis of ciliated muconodular papillary tumor. *J Cardiothorac Surg*. 2019;14(1):143.

Vallonthaiel AG, Jain D, Singh V, et al. c-Myb overexpression in cytology smears of tracheobronchial and pulmonary adenoid cystic carcinomas. *Acta Cytol*. 2017;61(1):77-83.

# 胸部肉腫に対する免疫マーカー

# 15

執筆者：Akihiko Yoshida, Anja C. Roden

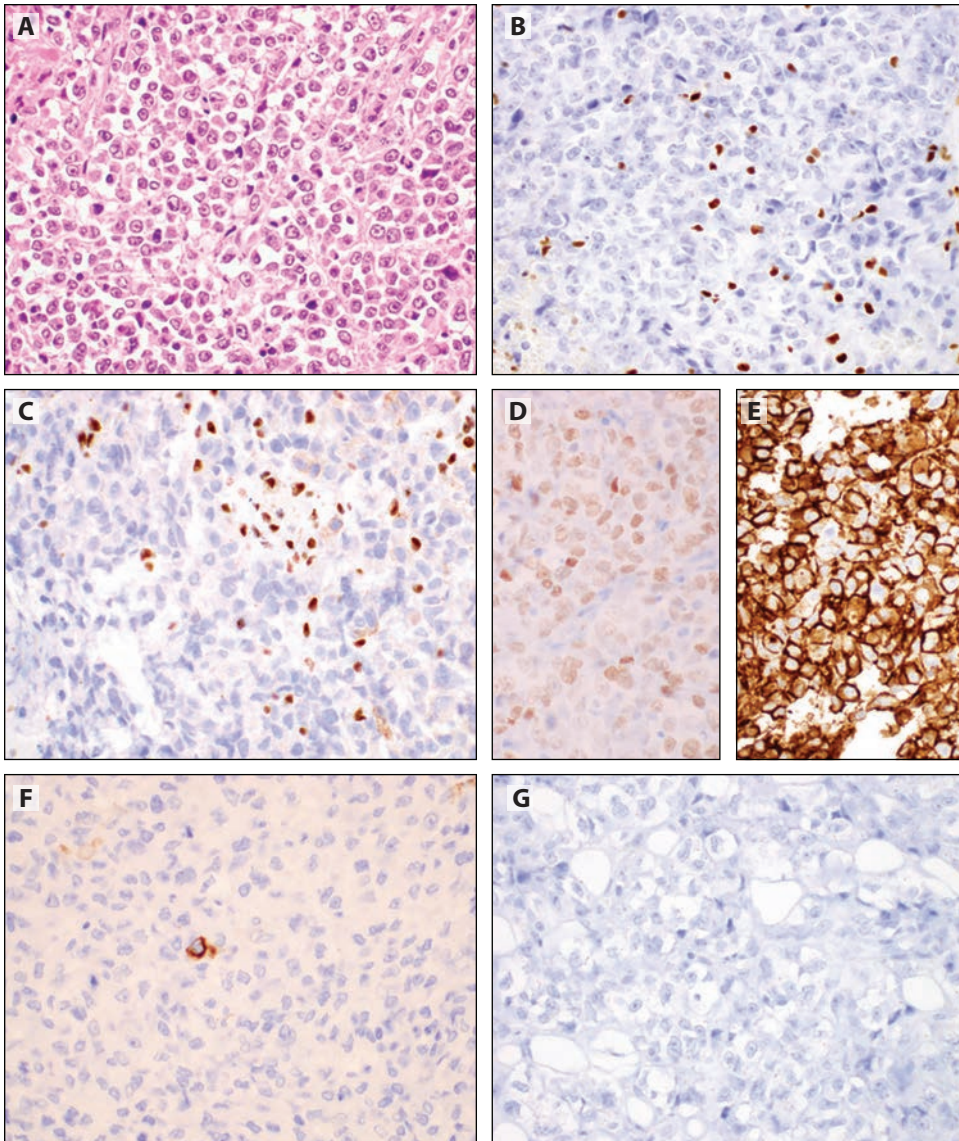
## はじめに

胸腔には、肉腫性の表現型を持つさまざまな腫瘍があり、それらには肉腫様癌、肉腫様中皮腫、真性肉腫などがあります。診断の精密検査は、臨床放射線学的な流れにおいては従来の組織学から始まりますが、ほとんどの場合、診断評価のためには免疫組織化学(IHC: immunohistochemistry)が必要となります。分子分析は、滑膜肉腫(SS18-SSX融合)やユーイング肉腫(EWSR1-ETS融合)などの特定の遺伝的異常を持った腫瘍の診断にも役立ち、場合によっては必須となります。胸腔から発生する肉腫様腫瘍は、肉腫様癌または肉腫様中皮腫のいずれかである可能性が非常に高くなります。したがって、肉腫の診断は、特に形態と免疫表現型が高齢患者の特定の種類の肉腫と適合しない場合は、細心の注意を払って行う必要があります。肉腫様癌および中皮腫は通常サイトケラチンに対して陽性であり、AE1/AE3などの広範囲な抗ケラチンを検出に使用する必要があります。ただし、一部の肉腫はサイトケラチンに対しても陽性である場合があるため、それらを区別するにはより特異的なマーカーが必要となります。肉腫様癌や肉腫様中皮腫の一部は、分化が不十分であるため、免疫組織化学的な調査によってもその由来のヒントとなるものさえも見つけられず、その症例の背景を無視すると真性肉腫と見分けがつかなくなる場合があります。

## いわゆるSMARCA4欠損胸部悪性腫瘍の診断に有効な免疫マーカーとは？

当初提案されたSMARCA4欠損胸部腫瘍という用語は、文献で広く使用されているが(2015年LeLoarer氏他、2019年Perret氏他、2017年Sauter氏他、2017年Yoshida氏他)、最近のデータでは、これらの症例の多くで上皮が由来であることが示唆されており(2020年Rekhtman氏他)、適切な用語に関する論争が起きています。2020年の世界保健機関(WHO: World Health Organization)の分類では、胸部SMARCA4欠損未分化腫瘍という用語を使用しています。





**図15-1** : (A) 胸部SMARCA4欠損未分化腫瘍。(B) SMARCA4の発現は、通常、内皮細胞や炎症細胞などの無傷のポジティブコントロールに対しては完全に失われます。(C) SMARCA2 (BRM) 染色は、ほとんどの場合失われます。SMARCB1 (INI1) の発現は常に保持されます。多くの症例では、(D) spalt様転写因子4 (SALL4) および (E) CD34を発現します。(F) サイトケラチンは限局性または陰性である必要があります。(G) クローディン4は陰性である必要があります。

この疾患の特徴は、古典的な組織学に加えて、SMARCA4 (BRG1) の欠損にあります。SMARCA4の発現は、通常、内皮細胞や炎症細胞などのインターナルポジティブコントロールに対して完全に失われます(2019年Perret氏他、2017年Sauter氏他、2017年Yoshida氏他)。さらに、SMARCA2 (BRM) 染色はほとんどの場合失われますが(2019年Perret氏他、2017年Yoshida氏他)、SMARCB1 (インテグラーゼインタラクター1 [INI1: integrase interactor 1]) の発現は常に保持されます。症例は、spalt様転写因子4 (sal様タンパク質4 [SALL4: sal-like protein 4])、CD34、SOX2 (2019年Perret氏他、2017年Yoshida氏他) を発現する場合があります。SALL4の発現は胚細胞腫瘍の誤診につながる可能性があります。サイトケラチンは通常、限局的に発現します。びまん性の強い固形細胞質サイト

ケラチン染色は非常に珍しく、癌腫または中皮腫であることを示唆している可能性があります。クローディン4はほとんどの場合陰性となります。例外的なケースでは、甲状腺転写因子1 (TTF1: thyroid transcription factor-1) が発現する場合があります。これらのタンパク質は、精巣核タンパク質 (NUT: nuclear protein in testis)、デスミン、マイオジェニン、S100に対して一様に陰性となります。SMARCA4の発現喪失は、胸部のSMARCA4欠損未分化腫瘍に特異的なものではなく、肺を含む様々な臓器の癌腫、卵巣の小細胞癌、高カルシウム血症型、中枢神経系の非定型奇形ラブドイド腫瘍のサブセットで見られます (図15-1A-G)。

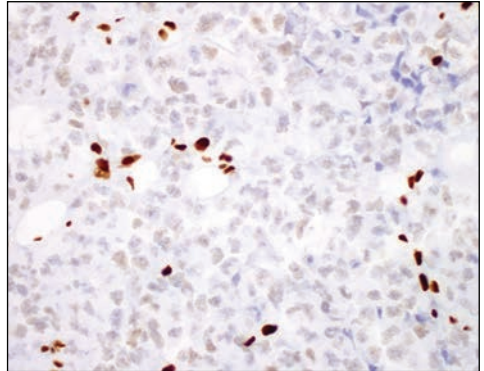


図15-2 : SMARCA4の染色は、内部コントロールと比較して、減少しているもの見ることができます。

ごく一部の症例では、図15-2に示すように、SMARCA4の染色が対照細胞と比較して著しく減少することがありますが、依然として目で見ることができます (2017年Yoshida氏、2020年Rekhtman氏他)。

### まとめの回答

胸部SMARCA4欠損未分化腫瘍では、SMARCA4 (BRG1) に対する免疫染色がないか、もしくは著しく減少しています。

### 胸腔腫瘍の評価では、どのようなときにSMARCA4の染色を考慮すべきか？

肺腺癌、大細胞癌、多形性癌の小さなサブセットでは、SMARCA4免疫反応が存在しません (2013年Matsubara氏他、2013年Oike氏他、2015年Yoshimoto氏他)。このような癌腫のサブセットは、低分化の組織像を示す傾向があり、通常、TTF1に対して陰性です。これらの腫瘍は、悪性ラブドイド腫瘍または類上皮肉腫の近位変異体を模倣するラブドイド要素の有無にかかわらず、比較的变化に乏しい軽度の非分化性円形細胞からなる未分化組織像を欠いているため、胸部SMARCA4欠損未分化腫瘍の組織学的基準を満たしていません (図15-3)。粘着性シート、腺形成、乳頭状構造、角質化などの明確な上皮分化がある場合、診断の際にSMARCA4染色は通常どおりには表れません。最近の研究により、並列化された明確な癌成分を含む少数の複合腫瘍も特定されました (2020年Rekhtman氏他)。

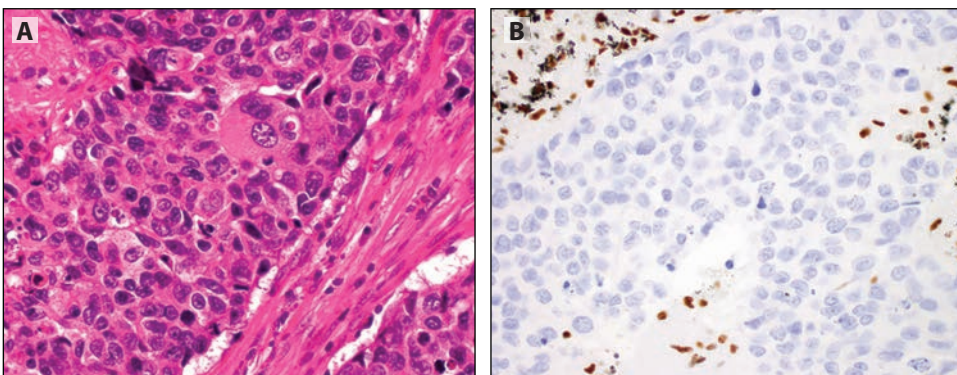


図15-3 : (AおよびB) SMARCA4染色がないことを示す癌腫の明らかな症例。



## まとめの回答

SMARCA4に対する染色は、形態学的に未分化の、比較的变化の少ない、非付着性の、またはラブドイドパターンの腫瘍で行うべきであり、形態学的に未分化の癌腫で行うのは一般的ではありません。

## 血管内皮の分化を証明するのに有効な免疫マーカーとは？

血管内皮マーカーの信頼できる組み合わせはERGとCD31であり、血管内皮腫瘍の95%以上を染色します(2011年Miettinen氏)。内皮腫瘍における核ERGの発現は、通常、びまん性で強く、一部の癌腫では陰性もしくはせいぜい限局的に弱く発現しているのとは対照的となります。CD31の発現は内皮細胞では通常、拡散して膜状になっています(図15-4)。他の内皮マーカーには、CD34、FLI1、第VIII因子関連抗原がありますが、感度や特異性が十分ではないため、内皮分化の最も信頼のおけるマーカーとしては推奨されません。

CD31は、マクロファージや組織球でも発現します(図15-5)。腫瘍浸潤組織球のCD31の発現の強さを、腫瘍反応性や内皮分化の証拠と誤解しないようにしてください(2001年McKenney氏他)。ERGの発現は、血リンパ細胞、軟骨細胞、類上皮肉腫、前立腺癌のサブセット、およびユーイング肉腫でも観察されます。

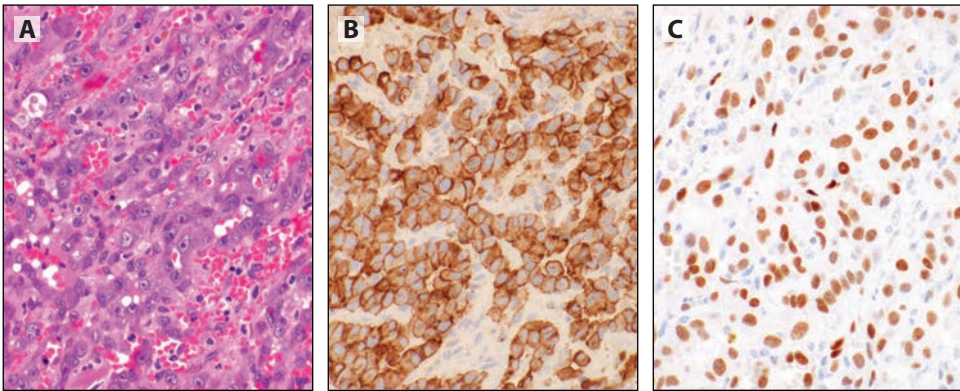


図15-4：(B) びまん性膜染色を使用したCD31および (C) 強い核染色を使用したERGに対して免疫組織化学を使用した類上皮血管肉腫 (A)。

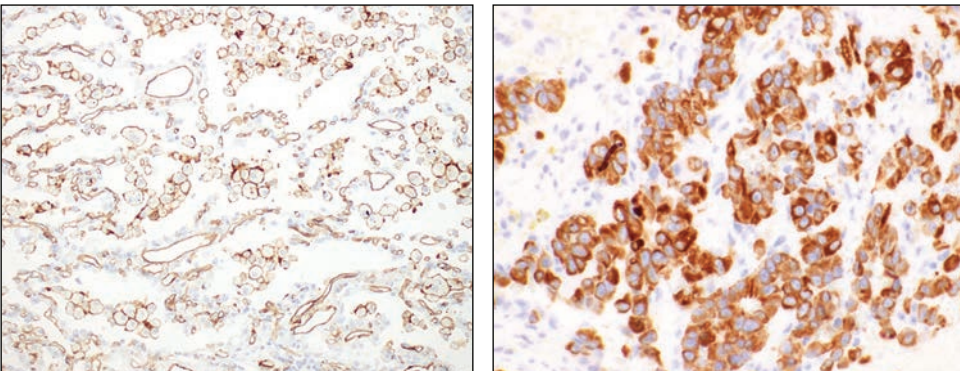


図15-5：肺組織染色肺マクロファージにおけるCD31に対する免疫組織化学。

図15-6：サイトケラチンに対する免疫組織化学は類上皮血管肉腫内では陽性です。



サイトケラチンの発現は、類上皮血管内皮腫瘍では比較的よく見られるものであり、上皮分化の証拠とみなすべきではありません(図15-6)。

### まとめの回答

ERGとCD31は効果的な内皮マーカーです。CD34やFLI1などの他のマーカーも効果的である可能性はありますが、信頼性は低くなります。

### 悪性血管内皮腫瘍におけるサブタイピングに有効な免疫マーカーとは？

血管肉腫と類上皮血管内皮腫(EHE: epithelioid hemangioendotheliomas)は、肺と胸膜から発生する可能性のある2つの異なる悪性血管内皮腫瘍です。多くの場合、形態学的にこれらの2つの腫瘍を区別することができます。これらの腫瘍の両方に見られる内皮マーカー以外には、血管肉腫に対して特異的な他のマーカーはありません。

EHEの95%以上がWWTR1-CAMTA1融合体を保有しており、その結果、カルモジュリン結合転写活性化因子1(CAMTA1: calmodulin-binding transcription activator 1) IHCが腫瘍細胞の核内でびまん的に発現しています(2015年Shibuya氏他、2016年Doyle氏他)(図15-7)。

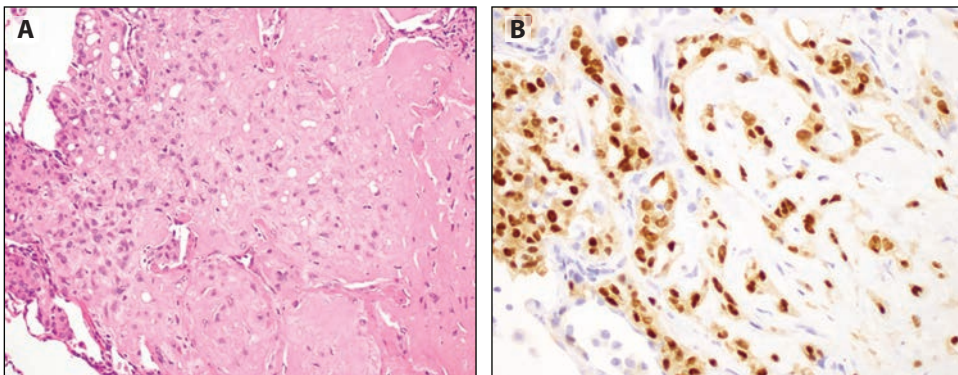


図15-7 : (A) 類上皮血管内皮腫(EHE)、これは (B) CAMTA1の強い核発現を示しています。

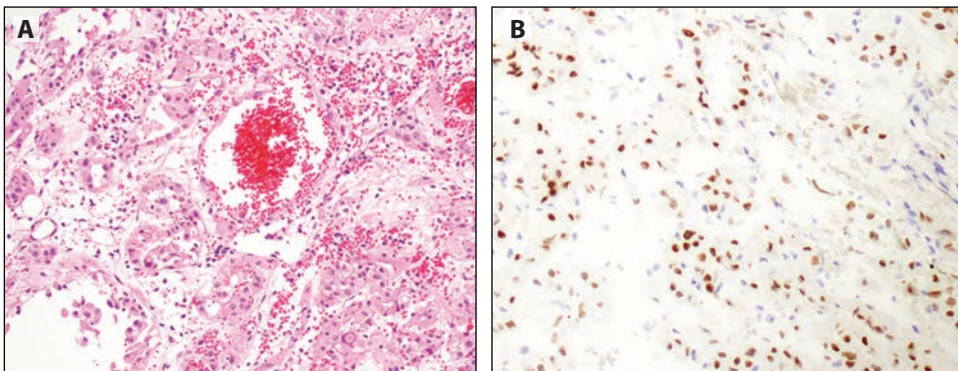


図15-8 : (A) TFE3再編成済み類上皮血管内皮腫(EHE)、これは (B) TFE3の核反応性を示しています。

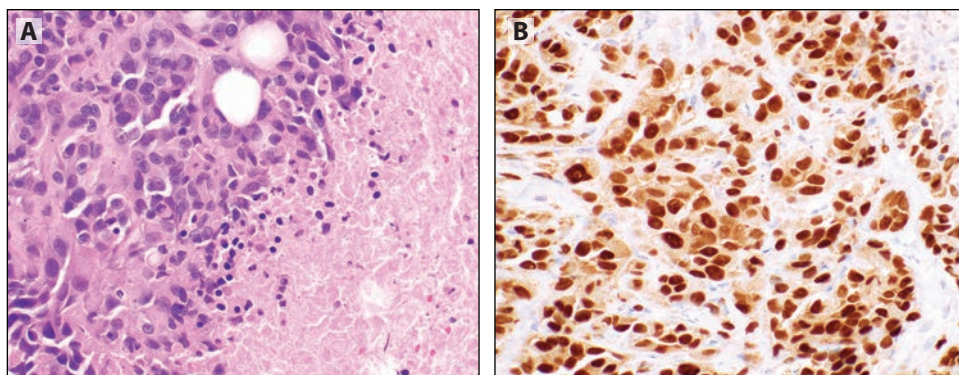


図15-9 : (A) 侵襲性の形態を有するこのEHEでは、(B) 陽性のCAMTA1染色が見られました。これにより診断が確定します。

EHEの残りの5%未満は、YAP1-TFE3融合体を保有しているため、核転写因子E3 (TFE3: transcription factor E3) の反応に対してびまん的に陽性となります (図15-8) (2013年Antonescu氏他)。

EHEの中には侵襲性の組織像を示すものがあり、類上皮血管肉腫では見られないCAMTA1反応が鑑別診断の解決に役立ちます (図15-9)。

### まとめの回答

CAMTA1とTFE3のIHCは転位の代用物であり、血管腫瘍の細分類において有効である場合があります。

### 滑膜肉腫とその模倣物を区別するのに有効な免疫マーカーとは？

滑膜肉腫は、症例の80~90%においてサイトケラチンや上皮膜抗原 (EMA: epithelial membrane antigen) に対して陽性となり、EMA染色はサイトケラチンよりも広範囲に及ぶことが多い (2002年Pelmsus氏他) (図15-10)。逆に、肉腫様組織を持つ他の多くの腫瘍 (例: 肉腫様癌) はEMAとサイトケラチンを発現する可能性があるため、滑膜肉腫の診断においてこれらのマーカーに過度に依存しないことが必要となります。単発性線維性腫瘍とは対照的に、滑膜肉腫は通常CD34に対して陰性であり (2002年Pelmsus氏他)、シグナル伝達兼転写活性化因子6 (STAT6: signal transducer and activator of transcription 6) 染色を持っていません。p40は、滑膜肉腫とA型胸腺腫を区別するのに役立ちます。トランスデュースイン様エンハンサータンパク質1 (TLE1: transducin-like enhancer protein 1) の中~強にわたる強度を持つ核発現は、滑膜肉腫の90%で確認されます (図15-10C)。ですが、これは完全に特異的なものではありません (Terry氏他, 2007年; Kosemehmetoglu氏他, 2009年Foo氏他, 2011年)。背後にある内皮細胞および炎症細胞のそのままの強度と比較した場合のSMARCB1 (INI1) の発現の低下は、90%の症例で見られ、紡錘細胞腫瘍の滑膜肉腫に特異的であると考えられています (2016年Ito氏他, 2013年Arnold氏他) (図15-10D)。

多数の滑膜肉腫がCD56を発現しており (2007年Hartel氏他)、少数ではありますがシナプトフィジンに対して陽性の症例もあるため (2015年Satoh氏他)、特に小規模な生検では神経内分泌癌と誤診してしまうピットフォールとなる可能性のある表現型です (図15-11)。



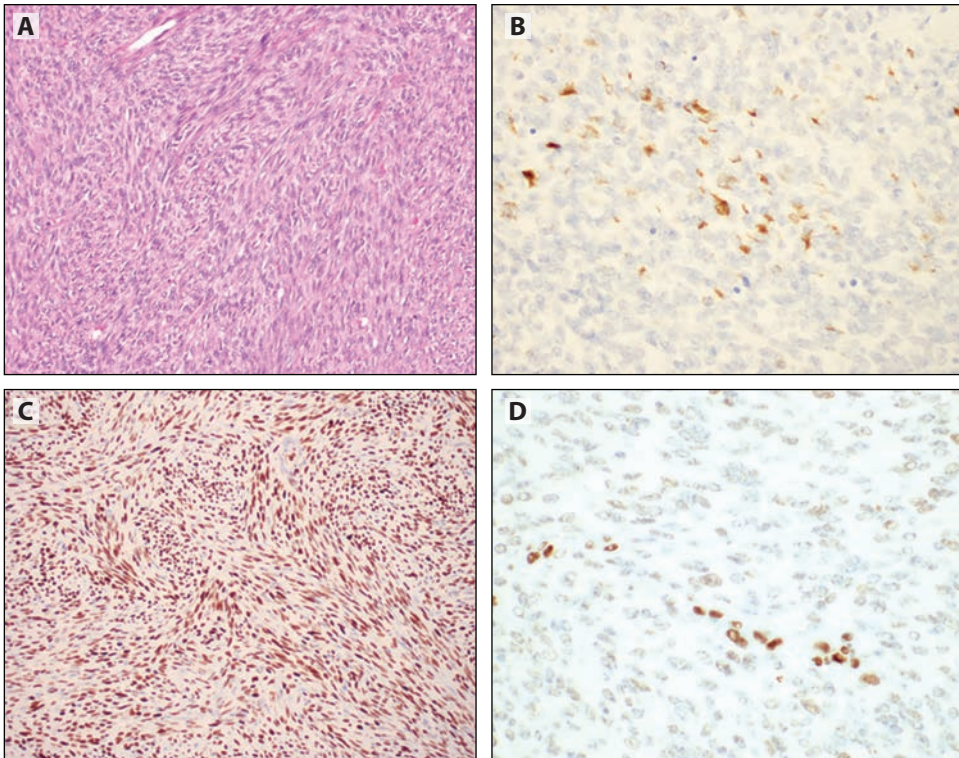


図15-10：滑膜肉腫の免疫組織化学。(A) 内の単相性滑膜肉腫は、(B) サイトケラチンに対して限局的に陽性となりますが、(C) びまん性のTLE1の核発現を示します。(D) に示すように、SMARCB1 (INI1) の減少は、内皮細胞と比較して、既知の染色パターンとなります。

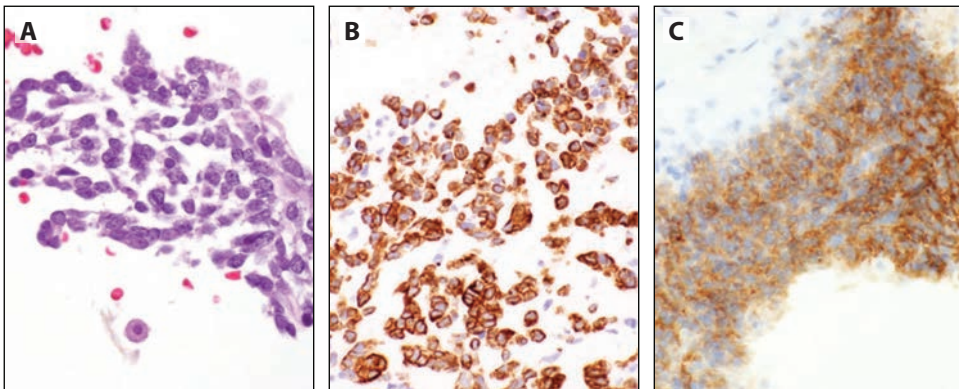


図15-11：(A) 小細胞形態の滑膜肉腫。このような症例における (B) ケラチンおよび (C) シナプトフィジンに対する陽性は、小細胞癌を模倣する場合があります。

### まとめの回答

サイトケラチンとTLE1のIHCは、お互い関連して陰性の場合、滑膜肉腫の診断に役立つ可能性があります。しかし、難しい症例に関しては、蛍光in situハイブリダイゼーション (FISH: fluorescence in situ hybridization) や分子検査で確認することができます。



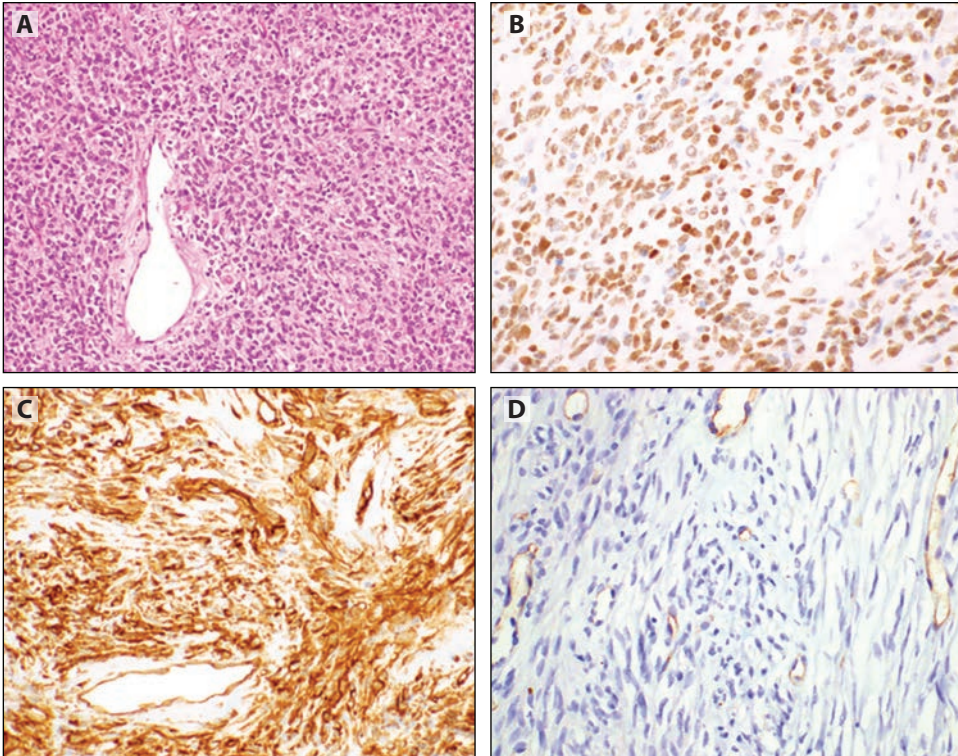


図15-12：(B) 核STAT6および (C) 陽性CD34を持つ (A) 孤立性線維性腫瘍。しかし、(D) 特に悪性腫瘍などではCD34が陰性になる場合もあります。

### 孤立性線維性腫瘍の評価に有効な免疫マーカーとは？

実上、すべての孤立性線維性腫瘍(SFT: solitary fibrous tumor)は、特定の融合NAB2-STAT6を持っています。この融合により、STAT6タンパク質が核内に異常に蓄積され、強い核STAT6免疫染色として容易に検出されます(図15-12AおよびB)。この反応はSFTの広い組織学的スペクトルで観察され、SFTの診断のための高感度かつ特異的なマーカーとして認識されています(2014年b Doyle氏他、2014年Yoshida氏他)。CD34はSFTの90%以上で陽性ですが、特に悪性のSFTでは染色が限局的であったり、あるいは欠如していることもあります。bcl-2は陽性であることがよくありますが、このマーカーは特異的ではありません(図15-12CおよびD)。

STAT6 IHCのパフォーマンスは、固定によって著しく影響を受ける場合があります。例えば、大きな切除標本では、サンプルの中心部が陰性で周辺部のみに反応が見られることが多く(図15-13A)、陽性部分を注意深く探す必要があります(2014年Yoshida氏他)。

モノクローナルSTAT6抗体により、解釈が明確になることがよくありますが(2014年Cheah氏他)、ポリクローナルSTAT6抗体は、非SFT腫瘍において細胞質と核の両方で反応がぼやけることがあり、解釈には注意が必要となります(図15-13B)。脱分化した脂肪肉腫の小さなサブセット(10%以下)は、STAT6が増幅しているためSTAT6の免疫反応を示します(2014年a Doyle氏他)(図15-13C)。

### まとめの回答

モノクローナル抗体を使用するSTAT6は、SFTに対して感度が高く比較的特異的なマーカーです。

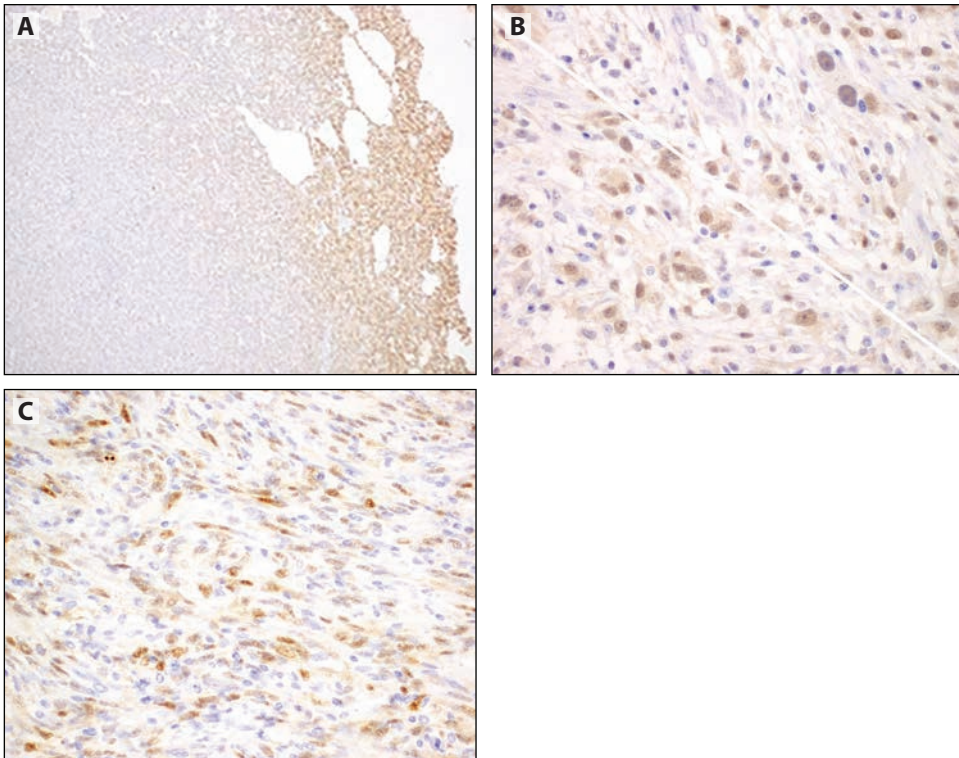


図15-13：STAT6免疫組織化学のピットフォール。(A) 固定により、腫瘍組織に末梢染色パターンが生じる場合があります。(B) ポリクローナル試薬による細胞質/核STAT6反応を示す未分化多形性肉腫。この中で、SFTに関しては診断上陽性と解釈すべきではありません。(C) 細胞質分布および核分布の両方を持つSTAT6に対して多病巣性染色を施した脱分化脂肪肉腫。

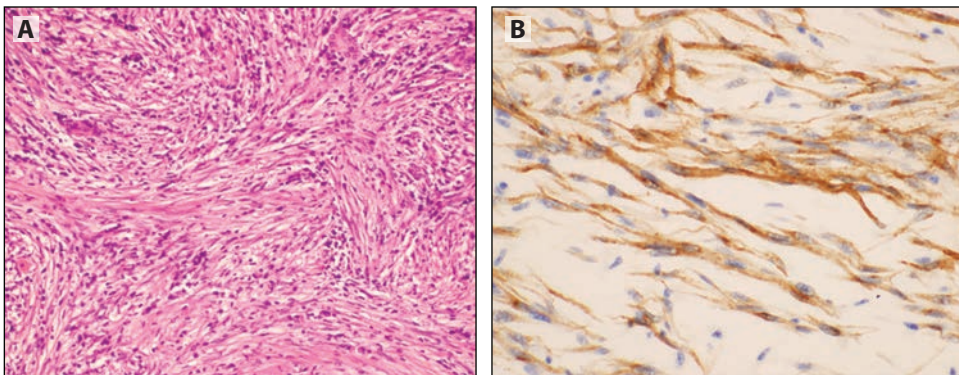


図15-14：(A) 炎症性筋線維芽細胞腫瘍は (B) ALKに対して免疫陽性です。これは、ALK転座陽性の症例(60~70%)で見られます。

### 免疫マーカーは炎症性筋線維芽細胞性腫瘍の診断に有効か？

炎症性筋線維芽細胞性腫瘍 (IMT: inflammatory myofibroblastic tumor) の約60~70%はALK融合体を持ち、多くの異なるパートナー遺伝子が存在します (図15-14)。一部の融合体 (PPFIBP1-ALKなど) は低レベルの未分化リンパ腫キナーゼ (ALK: anaplastic



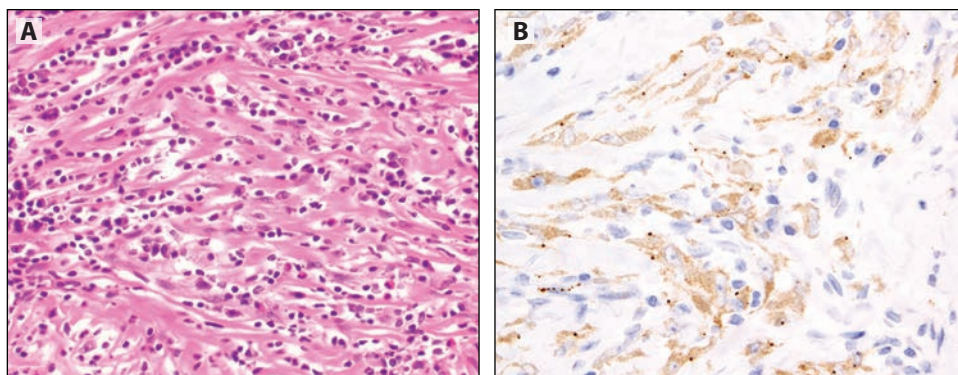


図15-15：(B) ROS1タンパク質の転座を伴う (A) この炎症性筋繊維芽細胞性腫瘍 (IMT) は、ROS1免疫反応を示します。

lymphoma kinase) タンパク質を発現するため、最適な検出を実現するには、D5F3、1A4、5A4などの高感度のALKクローンが推奨されます(2011年Takeuchi氏他)。ALKの発現は、肺の紡錘細胞腫瘍においてはIMTに対して特異的ではありません。ALK再構成非小細胞肺癌(NSCLC: non-small cell lung carcinoma)の肉腫様分化に加えて(Mason氏他, 2016年)、横紋筋肉腫や血管腫様線維性組織球腫などの他の腫瘍は、融合遺伝子が欠如しているにもかかわらずALKを発現する場合があります(2019年Cheah氏他、2013年Yoshida氏他)。IMTは平滑筋アクチン(SMA: smooth muscle actin)やデスミンを様々な程度で発現しており、筋線維芽細胞の分化を反映しています。SMAとデスミンの共発現は必ずしも平滑筋の分化を示すものではありません。IMTはサイトケラチンに対して陽性である場合がありますが、これが上皮腫瘍の誤診につながってはなりません(1995年Coffin氏他)。

ALK陰性IMTの小規模なサブセットには、代替のc-ros癌遺伝子1 (ROS1: c-ros oncogene 1)または神経栄養因子チロシンキナーゼ受容体(NTRK: neurotrophic tyrosine receptor kinase)の転位が含まれており、これらのサブセットは、ROS1 (図15-15)および汎TRK IHCを使用してそれぞれ検出できます(2015年Hornick氏他、2019年Yamamoto氏他)。

## まとめの回答

正しい形態学的環境では、ALKまたはROS1のIHCはIMTの診断に役立ちます。

## 多形性紡錘細胞肉腫の評価に役立つ免疫マーカーとは？

事実上、すべての脱分化型脂肪肉腫で、MDM2遺伝子の高レベルの増幅があり、80%の症例でCDK4の共増幅が見られます。このことは、90%以上の症例でマウス二重微小染色体2ホモログ/E3ユビキチンタンパク質リガーゼ(MDM2: mouse double minute 2)とサイクリン依存性キナーゼ4 (CDK4: cyclin-dependent kinase 4)が免疫組織化学的に共発現していることからわかります(図15-16) (2005年Binh氏他)。MDM2またはCDK4のどちらか一方だけの発現では、遺伝子増幅に対して特異的ではなく、MDM2反応それ自体は他の肉腫タイプの20%で見られます(2005年Binh氏他)。また、肉腫様癌や中皮腫ではMDM2の過剰発現が見られることがあるため、形態や他のマーカーとの相関が必要です。



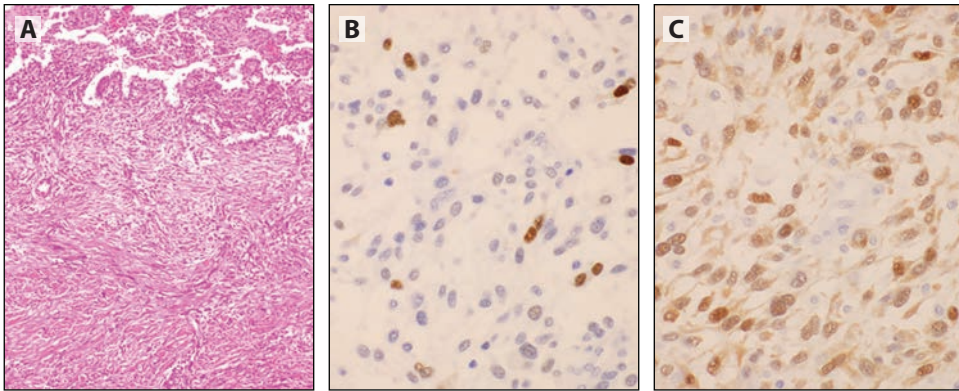


図15-16：(B) MDM2および (C) CDK4に対する免疫反応を示す肺を含む (A) 脱分化型脂肪肉腫。

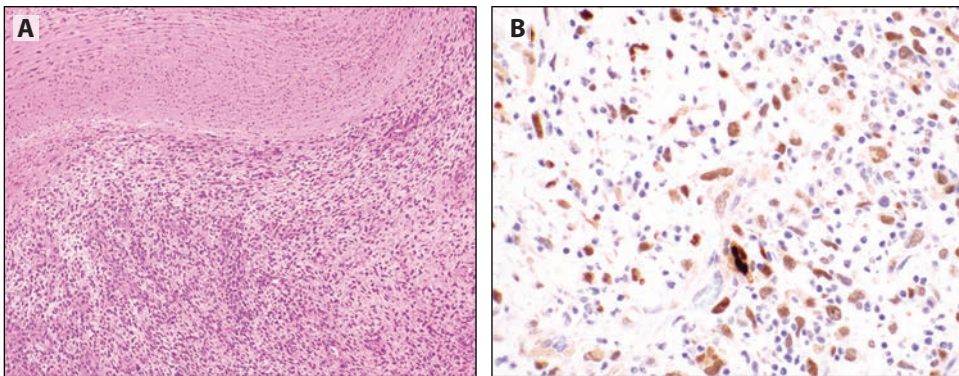


図15-17：この画像では動脈中膜が上に位置している肺動脈の (A) 内膜肉腫は、(B) 核MDM2に対して陽性です。

内膜肉腫(心臓内膜肉腫 [2014年Neville氏他] を含む)の約70%にMDM2増幅が見られ、その結果、MDM2免疫染色が陽性になります(2001年Bode-Lesniewska氏他)([図15-17](#))。しかし、MDM2の増幅やMDM2の過剰発現がないからといって、診断が除外されるわけではありません。内膜肉腫は通常、未分化の多形性肉腫の組織像を示しますが、一部の症例では形態的にも免疫表現型的にも異種分化を示します。

平滑筋肉腫は、SMA、デスミン、h-カルデスモンとの反応に代表されるように、平滑筋の分化を示します。ほとんどの場合、古典的な組織像に加えて、これらのマーカーのうち少なくとも2つが陽性となり、その中でもh-カルデスモンが最も特異的となります([図15-18](#))。

悪性末梢神経鞘腫瘍(MPNST: malignant peripheral nerve sheath tumor)では、S100タンパク質やSOX10に対する免疫反応が見られるのは半数程度であり、染色性は弱く、限局的であることが多くなります。したがって、びまん性の強いS100またはSOX10染色は、細胞性神経鞘腫または肉腫様悪性黒色腫などの代替診断を示唆します。MPNSTは、ポリコム抑制複合体2の重要な構成要素であるSUZ12またはEEDをコード化する遺伝子の変化の不活性化を伴うことが多く、その結果、ヒストンH3のリジン27トリメチル化が失われます。この現象は、H3K27me3の発現の喪失として可視化され([図15-19](#))、H3K27me3を保持する滑膜肉腫などの模倣体とは異なり、MPNSTの約50~60%で観察されます(2016年Schaefer氏他、2017年Asano氏他、2016年Prieto-Granada氏他)。

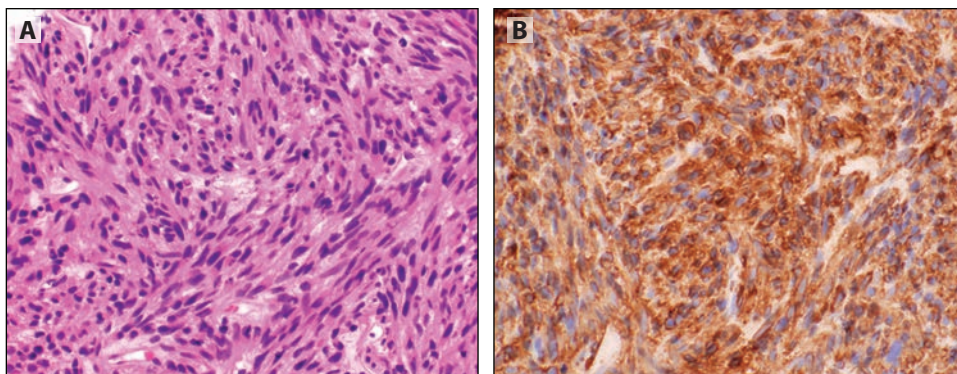


図15-18 : (B) h-カルデスモンに対して陽性な (A) 平滑筋肉腫。

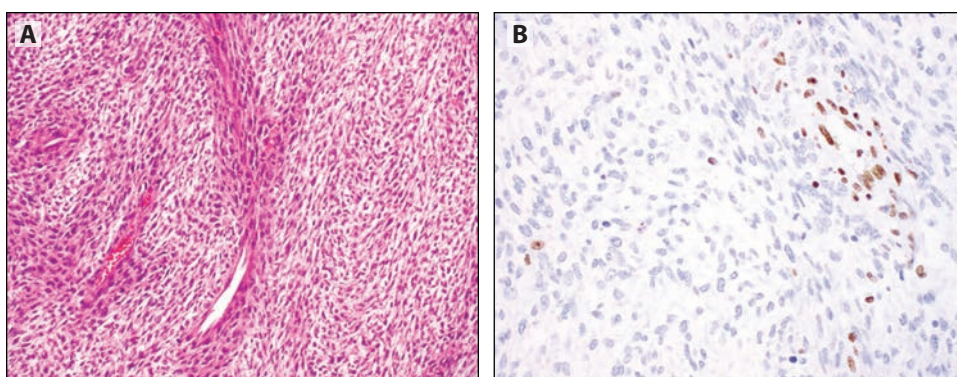


図15-19 : (B) H3K27me3の核喪失を伴う (A) 悪性末梢神経鞘腫瘍 (MPNST)。

## まとめの回答

MDM2、筋肉マーカー、H3K27me3などのさまざまなマーカーが紡錘細胞肉腫の分類に役立ちますが、それらすべてが複数の腫瘍タイプで反応を示す場合があります。

## 円形細胞肉腫の評価に役立つ免疫マーカーとは？

ほとんどのユーイング肉腫でCD99が発現します。CD99陽性自体は多くの腫瘍で見られますが、びまん性の強い膜状のCD99染色は、ユーイング肉腫に対してさらなる精密検査を行うきっかけとなる有用な所見となります。これらの腫瘍は、CD56、シナプトフィジン、インスリノーマ関連タンパク質1 (INSM1: insulinoma-associated protein 1)も発現させる場合があります。また症例の約20%でサイトケラチンに対して陽性であるため、小細胞癌との区別がさらに困難となっています。より特異的なユーイング肉腫マーカーとしては、NKX2-2およびPAX7があります(2018年Toki氏他) (図15-20)。

ただし、NKX2-2は、膵臓および消化管由来の小細胞癌および神経内分泌腫瘍の一部で陽性となることがあるため、臨床組織学的な背景を考慮して慎重に使用する必要があります(2016年Hung氏他、2012年Yoshida氏他) (図15-21)。

CICで再構成された肉腫は、ユーイング肉腫とは異なり、80~90%の症例で核ウィルムス腫瘍1 (WT1: Wilms tumor 1) およびETS変異転写因子4 (ETV4: ETS variant transcription factor 4) の発現を示します(2016年Yoshida氏他、2016年Hung氏他)。CICで再構成された肉腫は、散在するサイトケラチンの発現とともに類上皮形態を示すこ



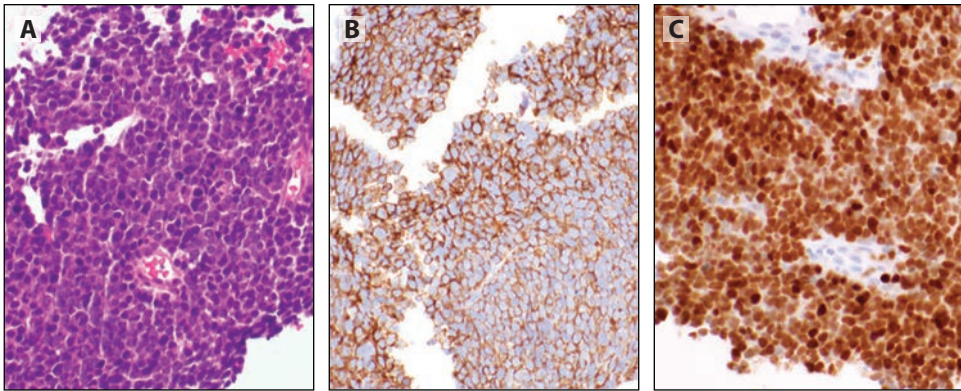


図15-20：(B) 強い膜状のCD99および (C) 核NKX2-2の発現を伴う (A) ユーイング肉腫。

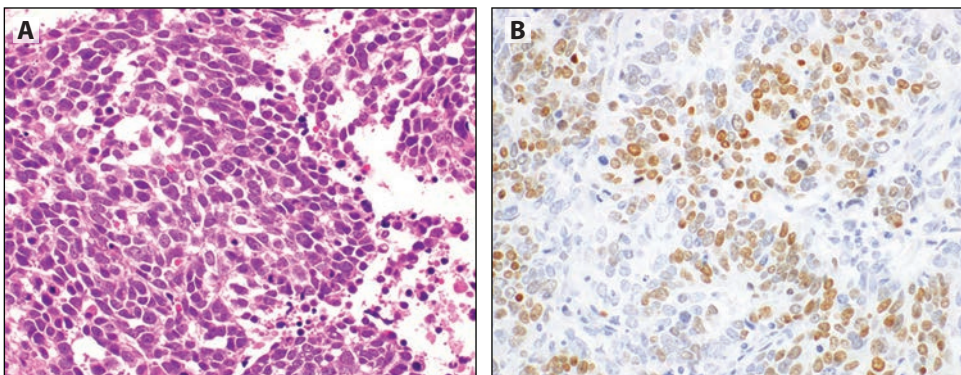


図15-21：(A) 小細胞癌が (B) NKX2-2に対して陽性であり、ユーイング肉腫に関しては診断上のピットフォールとなっています。

とがあり、多くの症例で、WT1に加えてカルレチンを発現するため、中皮腫の誤診に繋がる可能性があります(2016年Yoshida氏他) (図15-22)。

線維形成性の小さな円形細胞腫瘍が胸膜に発生することは稀です。上記の事象はサイトケラチンとデスミンの共発現を示しています。これらの腫瘍の特徴は、WT1 (C末端) 抗体を使用した場合にのみWT1が核発現することですが、WT1 (N末端) 染色は陰性となります(2000年Barnoud氏他) (図15-23)。

横紋筋肉腫が主に胸腔に作用することは稀です。横紋筋肉腫は通常、デスミンだけでなく、マイोजェニンやMYOD1に対して陽性となります(図15-24)。

胞巣状横紋筋肉腫は、サイトケラチン(図15-25A)、CD56(図15-25B)、シナプトフィジン(図15-25C)に対して陽性となる場合があるため、小細胞癌の誤診につながる可能性があります(2008年Bahrami氏他、2019年Wallace氏他)。

## まとめの回答

円形細胞肉腫のマーカーは診断に役立つ可能性がありますが、小細胞癌といったより一般的な疾患との重複が見られることがあります。疫学的考察(年齢)や腫瘍の位置が参考になる場合があるほか、必要に応じてFISHや分子検査を行うこともあります。



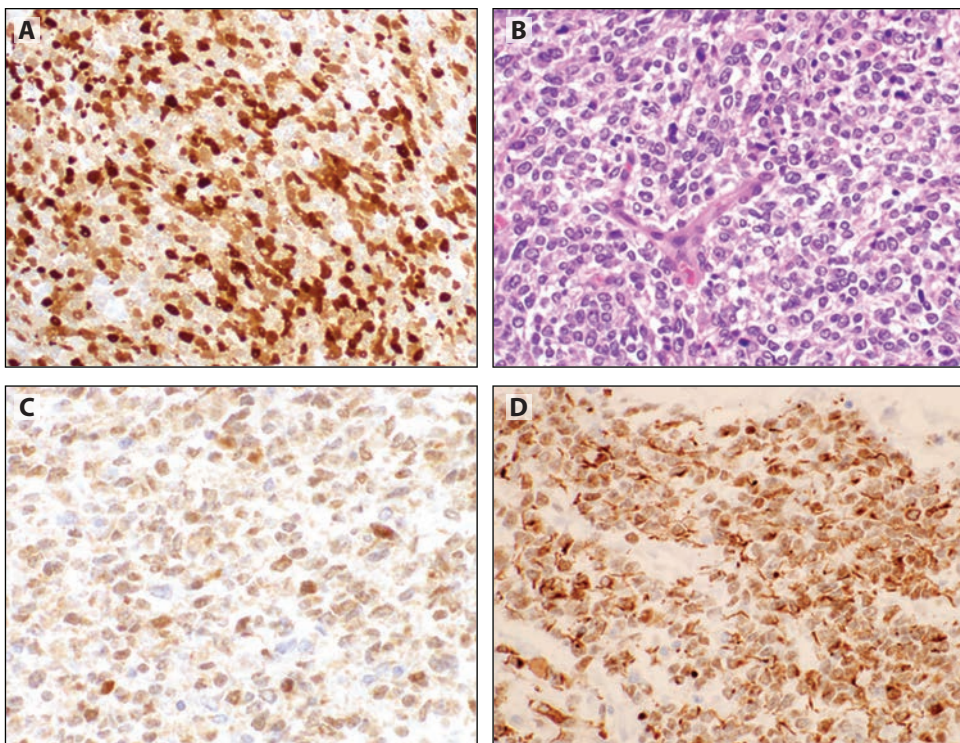


図15-22：(B) 膜状のETS変異転写因子4 (ETV4)、(C) 核WT1、(D) 陽性のカルレチニン発現を伴う (A) CIC再構成肉腫。

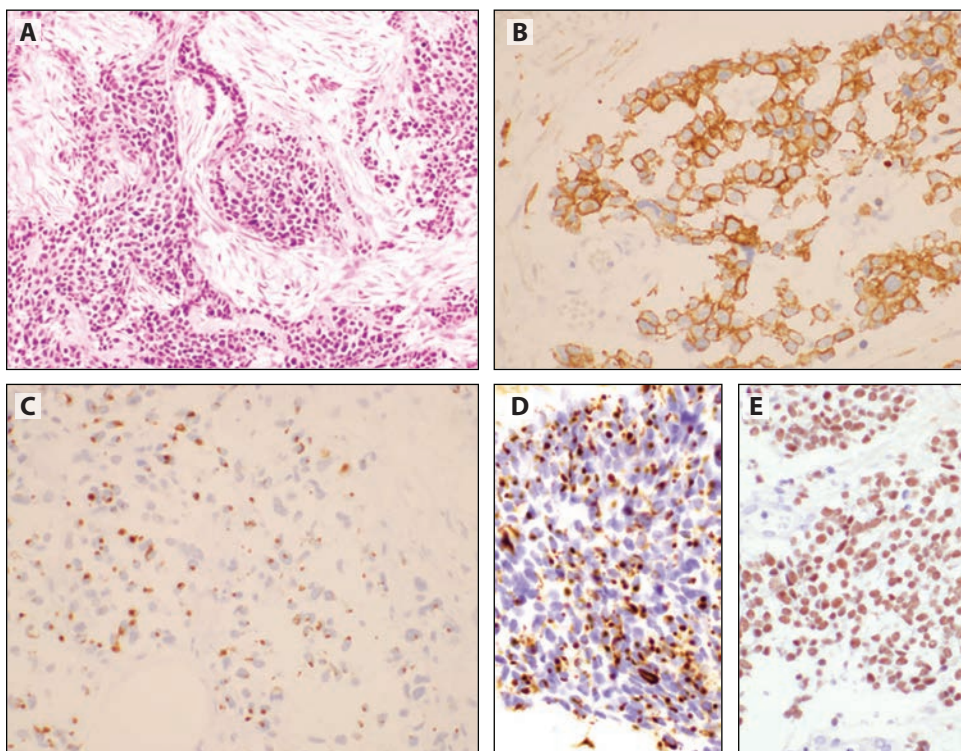


図15-23：(B) サイトケラチンAE1/AE3、(C) デスミン、陰性の核染色を伴う細胞質反応のみ示す (D) 核ウィルムス腫瘍1 (WT1) N末端、陽性の核染色を示す (E) WT1 C末端に対して陽性となる (A) 線維形成性小細胞腫瘍。



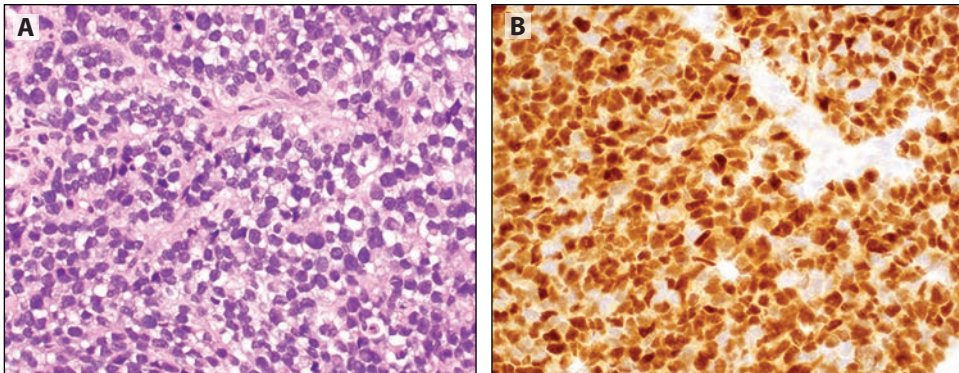


図15-24 : (B) マイオジェニンに対して陽性となる (A) 胞巣状横紋筋肉腫。

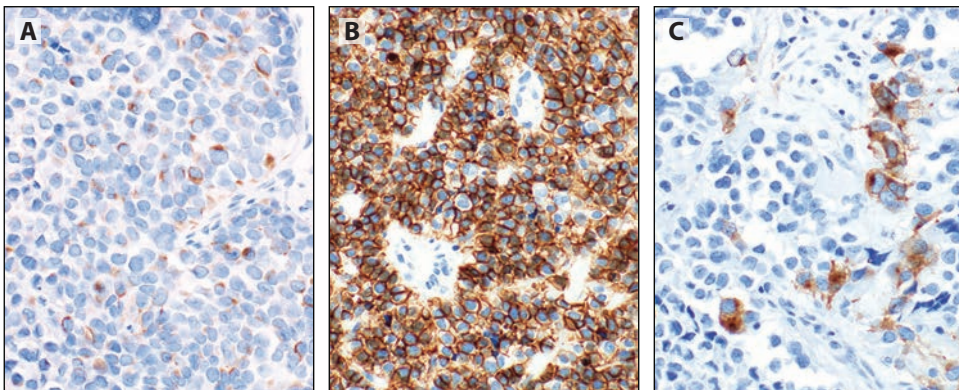


図15-25 : サイトケラチン、(B) CD56、(C) シナプトフィジンに対して陽性となる (A) 胞巣状横紋筋肉腫。

### PEComasとその模倣体を区別するのに役立つ免疫マーカーとは？

PEComa (血管周囲類上皮細胞腫瘍の同義語であり、明細胞腫瘍または糖質腫瘍である) は、通常、HMB45 (限局性顆粒状細胞形質染色パターン)、メラニンA、チロシナーゼA、CD68 (クローンKP1)、カテプシンKを含むメラニン細胞マーカーを発現し、サブセットはS100や小眼球症関連転写因子 (MiTF: microphthalmia transcription factor) を発現します。通常、これらの腫瘍はケラチンとTTF1に対して陰性です。これらの染色は、この腫瘍を、扁平上皮癌、固形腺癌、転移性腎細胞癌などの明細胞の特徴を示す可能性のある癌と区別するのに役立ちます。PEComasとは対照的に、リンパ脈管筋腫症内の病変細胞はSMAをより広範囲に発現し、デスミンを発現することもあり、S100に対して陰性となります (2018年Calio氏他、2015年Thway氏およびFisher氏、1997年Lantuejoul氏他) (図15-26)。

### まとめの回答

PEComasは通常、サイトケラチンに対して陰性であり、HMB45、メラニンA、チロシナーゼAに対して陽性です。

### 結論

原発性胸部間葉腫瘍および肉腫は稀ですが、肺および縦隔内の他の多くの腫瘍に似た症状を呈する場合があるため、他の腫瘍の精密検査において考慮する必要があります。さらに、肉腫は胸部に転移することが多く、時には原発腫瘍の治療後何年も経って

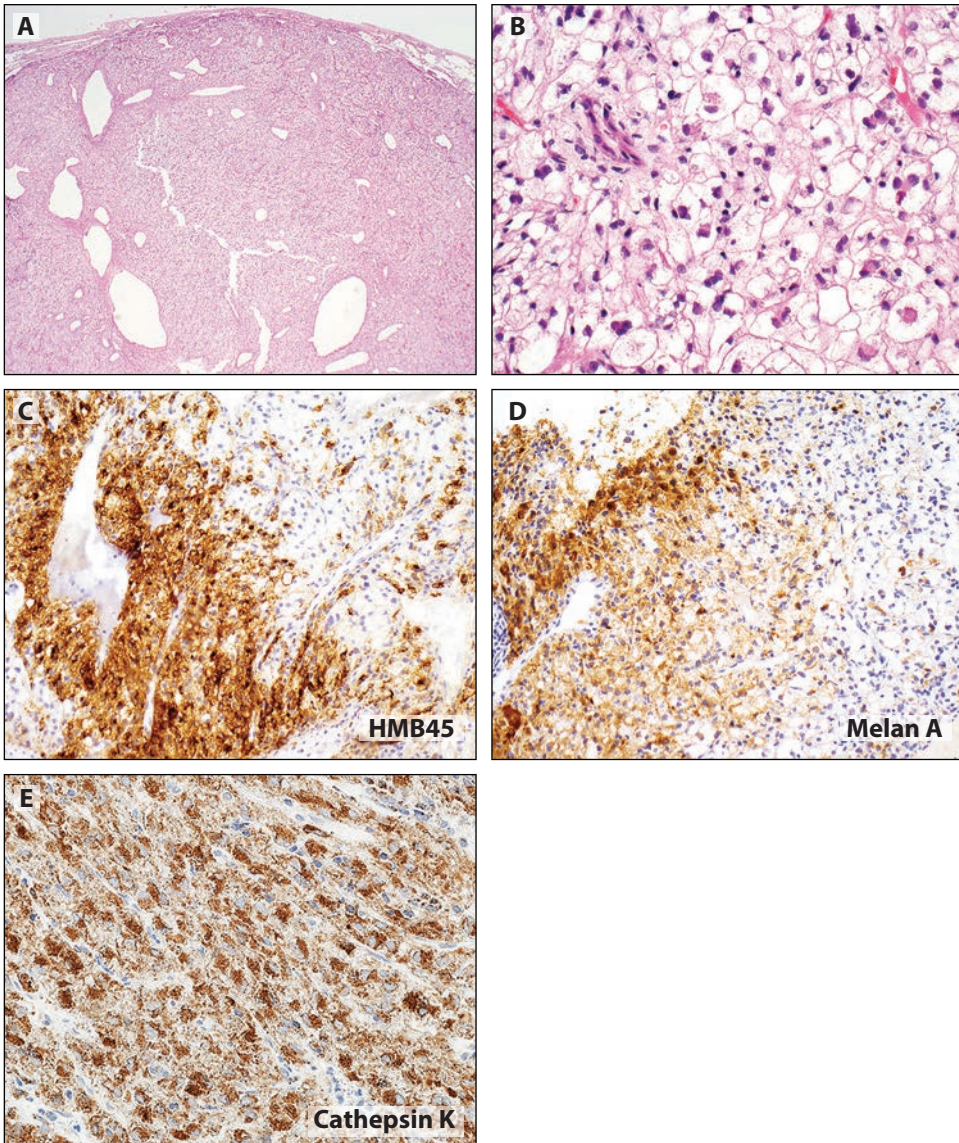


図15-26：(A) PEComaは低倍率では外接しており、(B) 高倍率では細胞が明確に見えます。HMB45、(D) メランA、(E) カテプシンKに対して (C) 免疫組織化学 (IHC) は陽性となります。(Eは、公益財団法人がん研究会がん研究所 (日本、東京) 病理部 H. Ninomiya博士の厚意によるものです)

から転移することもあります。IHCはこれらの腫瘍の多くを区別するのに有効ですが、ほとんどのマーカーは単一の腫瘍組織に対して特異的ではないため、通常は免疫染色のパネルを適用する必要があります。さらに、一部の腫瘍では、IHCが診断の精密検査に役立ちますが、最終的な診断では分子研究が必要になる場合があります (例：滑膜肉腫またはユーイング肉腫)。

## 参考文献

Antonescu CR, Le Loarer F, Mosquera JM, et al. Novel YAP1-TFE3 fusion defines a distinct subset of epithelioid hemangioendothelioma. *Genes Chromosomes Cancer*. 2013;52(8):775-784.

Arnold MA, Arnold CA, Li G, et al. A unique pattern of INI1 immunohistochemistry distinguishes synovial sarcoma from its histologic mimics. *Hum Pathol*. 2013;44(5):881-887.



- Asano N, Yoshida A, Ichikawa H, et al. Immunohistochemistry for trimethylated H3K27 in the diagnosis of malignant peripheral nerve sheath tumours. *Histopathology*. 2017;70(3):385-393.
- Bahrami A, Gown AM, Baird GS, et al. Aberrant expression of epithelial and neuroendocrine markers in alveolar rhabdomyosarcoma: a potentially serious diagnostic pitfall. *Mod Pathol*. 2008;21(7):795-806.
- Barnoud R, Sabourin JC, Pasquier D, et al. Immunohistochemical expression of WT1 by desmoplastic small cell tumor: a comparative study with other small round cell tumors. *Am J Surg Pathol*. 2000;24(6):830-836.
- Binh MB, Sastre-Garau X, Guillou L, et al. MDM2 and CDK4 immunostainings are useful adjuncts in diagnosing well-differentiated and dedifferentiated liposarcoma subtypes: a comparative analysis of 559 soft tissue neoplasms with genetic data. *Am J Surg Pathol*. 2005;29(10):1340-1347.
- Bode-Lesniewska B, Zhao J, Speel EJ, et al. Gains of 12q13-14 and overexpression of mdm2 are frequent findings in intimal sarcomas of the pulmonary artery. *Virchows Arch*. 2001;438(1):57-65.
- Calio A, Mengoli MC, Cavazza A, et al. Cathepsin K expression in clear cell "sugar" tumor (PEComa) of the lung. *Virchows Arch*. 2018;473(1):55-59.
- Cheah AL, Billings SD, Goldblum JR, et al. STAT6 rabbit monoclonal antibody is a robust diagnostic tool for the distinction of solitary fibrous tumour from its mimics. *Pathology*. 2014;46(5):389-395.
- Cheah AL, Zou Y, Lanigan C, et al. ALK expression in angiomatoid fibrous histiocytoma: a potential diagnostic pitfall. *Am J Surg Pathol*. 2019;43(1):93-101.
- Coffin CM, Watters J, Priest JR, et al. Extrapulmonary inflammatory myofibroblastic tumor (inflammatory pseudotumor). A clinicopathologic and immunohistochemical study of 84 cases. *Am J Surg Pathol*. 1995;19(8):859-872.
- Doyle LA, Fletcher CD, Hornick JL. Nuclear expression of CAMTA1 distinguishes epithelioid heman-gioendothelioma from histologic mimics. *Am J Surg Pathol*. 2016;40(1):94-102.
- Doyle LA, Tao D, Marino-Enriquez A. STAT6 is amplified in a subset of dedifferentiated liposarcoma. *Mod Pathol*. 2014;27(9):1231-1237. (a)
- Doyle LA, Vivero M, Fletcher CD, et al. Nuclear expression of STAT6 distinguishes solitary fibrous tumor from histologic mimics. *Mod Pathol*. 2014;27(3):390-395. (b)
- Foo WC, Cruise MW, Wick MR, et al. Immunohistochemical staining for TLE1 distinguishes synovial sarcoma from histological mimics. *Am J Clin Pathol*. 2011;135(6):839-844.
- Hartel PH, Fanburg-Smith JC, Frazier AA, et al. Primary pulmonary and mediastinal synovial sarcoma: a clinicopathologic study of 60 cases and comparison with five prior series. *Mod Pathol*. 2007;20(7):760-769.
- Hornick JL, Sholl LM, Dai Cin P, et al. Expression of ROS1 predicts ROS1 gene rearrangement in inflammatory myofibroblastic tumors. *Mod Pathol*. 2015;28(5):732-739.
- Hung YP, Fletcher CD, Hornick JL. Evaluation of NKX2-2 expression in round cell sarcomas and other tumors with EWSR1 rearrangement: imperfect specificity for Ewing sarcoma. *Mod Pathol*. 2016;29(4):370-380.
- Ito J, Asano N, Kawai A, et al. The diagnostic utility of reduced immunohistochemical expression of SMARCB1 in synovial sarcomas: a validation study. *Hum Pathol*. 2016;47(1):32-37.
- Kosemehmetoglu K, Vrana JA, Folpe AL. TLE1 expression is not specific for synovial sarcoma: a whole section study of 163 soft tissue and bone neoplasms. *Mod Pathol*. 2009;22(7):872-878.
- Lantuejoul S, Issac S, Pinel N, et al. Clear cell tumor of the lung: an immunohistochemical and ultrastructural study supporting a pericytic differentiation. *Mod Pathol*. 1997;10(10):1001-1008.
- Le Loarer F, Watson S, Pierron G, et al. SMARCA4 inactivation defines a group of undifferentiated thoracic malignancies transcriptionally related to BAF-deficient sarcomas. *Nat Genet*. 2015;47(10):1200-1205.
- Mason EF, Fletcher CD, Sholl LM. 'Inflammatory myofibroblastic tumour'-like dedifferentiation of anaplastic lymphoma kinase-rearranged lung adenocarcinoma. *Histopathology*. 2016;69(3):510-515.
- Matsubara D, Kishaba Y, Ishikawa S, et al. Lung cancer with loss of BRG1/BRM, shows epithelial mesenchymal transition phenotype and distinct histologic and genetic features. *Cancer Sci*. 2013;104(2):266-273.
- McKenney JK, Weiss SW, Folpe AL. CD31 expression in intratumoral macrophages: a potential diagnostic pitfall. *Am J Surg Pathol*. 2001;25(9):1167-1173.
- Miettinen M, Wang ZF, Paetau A, et al. ERG transcription factor as an immunohistochemical marker for vascular endothelial tumors and prostatic carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2011;35(3):432-441.
- Neuville A, Collin F, Bruneval P, et al. Intimal sarcoma is the most frequent primary cardiac sarcoma: clinicopathologic and molecular retrospective analysis of 100 primary cardiac sarcomas. *Am J Surg Pathol*. 2014;38(4):461-469.

- Oike T, Oglwara H, Tominaga Y, et al. A synthetic lethality-based strategy to treat cancers harboring a genetic deficiency in the chromatin remodeling factor BRG1. *Cancer Res.* 2013;73(17):5508-5018.
- Pelmus M, Gillou L, Hostien I, et al. Monophasic fibrous and poorly differentiated synovial sarcoma: immunohistochemical reassessment of 60 t(X;18)(SYT-SSX)-positive cases. *Am J Surg Pathol.* 2002;26(11):1434-1440.
- Perret R, Chalabreysse L, Watson S, et al. SMARCA4-deficient thoracic sarcomas: clinicopathologic study of 30 cases with an emphasis on their nosology and differential diagnoses. *Am J Surg Pathol.* 2019;43(4):455-465.
- Prieto-Granada CN, Wiesner T, Messina JL, et al. Loss of H3K27me3 expression is a highly sensitive marker for sporadic radiation-induced MPNST. *Am J Surg Pathol.* 2016;40(4):479-489.
- Rekhtman N, Montealvo J, Chang JC, et al. SMARCA4-deficient thoracic sarcomatoid tumors represent primarily smoking-related undifferentiated carcinomas rather than primary thoracic sarcomas. *J Thorac Oncol.* 2020;15(2):231-247.
- Satoh H, Takayashiki N, Shiozawa T, et al. Recurrent pulmonary synovial sarcoma effectively treated with amrubicin: a case report. *Exp Ther Med.* 2015;9(5):1947-1949.
- Sauter JL, Graham RP, Larsen BT, et al. SMARCA4-deficient thoracic sarcoma: a distinct clinicopathological entity with undifferentiated rhabdoid morphology and aggressive behavior. *Mod Pathol.* 2017;30(10):1422-1432.
- Schaefer IM, Fletcher CD, Hornick JL. Loss of H3K27 trimethylation distinguishes malignant peripheral nerve sheath tumors from histologic mimics. *Mod Pathol.* 2016;29(1):4-13.
- Shibuya R, Matsuyama A, Shiba E, et al. CAMTA1 is a useful immunohistochemical marker for diagnosis epithelioid haemangioendothelioma. *Histopathology.* 2015;67(6):827-835.
- Takeuchi K, Soda M, Togashi Y, et al. Pulmonary inflammatory myofibroblastic tumor expression a novel fusion, PPFIBP1-ALK: reappraisal of anti-ALK immunohistochemistry as a tool for novel ALK fusion identification. *Clin Cancer Res.* 2011;17(10):3341-3348.
- Terry J, Saito T, Subramanian S, et al. TLE1 as a diagnostic immunohistochemical marker for synovial sarcoma emerging from gene expression profiling studies. *Am J Surg Pathol.* 2007;31(2):240-246.
- Thway K, Fisher C. PEComa: morphology and genetics of a complex tumor family. *Ann Diagn Pathol.* 2015;19(5):359-368.
- Toki S, Wakai S, Sekimizu M, et al. PAX7 immunohistochemical evaluation of Ewing sarcoma and other small round cell tumors. *Histopathology.* 2018;73(4):645-652.
- Wallace WA, Dorward DA, Salter DM. Immunohistochemistry for small-cell carcinoma: a potential diagnostic pitfall. *Histopathology.* 2019;74(5):792-794.
- Yamamoto H, Nozaki Y, Kohashi K, et al. Diagnostic utility of pan-TRK immunohistochemistry for inflammatory myofibroblastic tumours. *Histopathology.* Published online October 3, 2019. doi:10.1111/his.14010
- Yoshida A, Goto K, Kodaira M, et al. CIC-rearranged sarcomas: a study of 20 cases and comparisons with Ewing sarcomas. *Am J Surg Pathol.* 2016;40(3):313-323.
- Yoshida A, Kobayashi E, Kubo T, et al. Clinicopathological and molecular characterization of SMARCA4-deficient thoracic sarcomas with comparison to potentially related entities. *Mod Pathol.* 2017;30(6):797-809.
- Yoshida A, Sekine, S, Tsuta K, et al. NKX2.2 is a useful immunohistochemical marker for Ewing sarcoma. *Am J Surg Pathol.* 2012;36(7):993-999.
- Yoshida A, Shibata T, Wakai S, et al. Anaplastic lymphoma kinase status in rhabdomyosarcomas. *Mod Pathol.* 2013;26(6):772-781.
- Yoshida A, Tsuta K, Ohno M, et al. STAT6 immunohistochemistry is helpful in the diagnosis of solitary fibrous tumors. *Am J Surg Pathol.* 2014;38(4):552-559.
- Yoshimoto T, Matsubara D, Nakano T, et al. Frequent loss of the expression of multiple subunits of the SWI/SNF complex in large cell carcinoma and pleomorphic carcinoma of the lung. *Pathol Int.* 2015;65(11):595-602.

# 転移性腫瘍との鑑別のための免疫マーカー

# 16

執筆者: Yasushi Yatabe, Phillipe Joubert, Sabina Berezowska,  
Daisuke Matsubara, Wendy A. Cooper

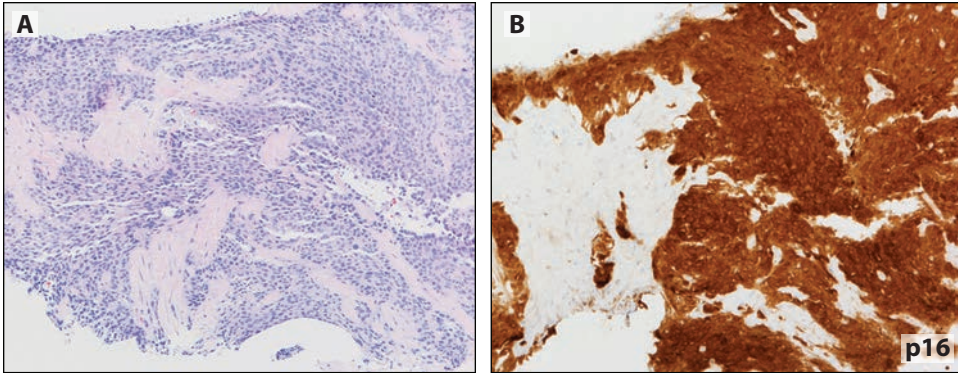
## はじめに

原発性肺癌と肺外転移とを区別することは、診断病理学の実践における重要な課題です。臨床病歴と既知の以前あった腫瘍との形態学的比較は重要ですが、免疫組織化学 (IHC: immunohistochemistry) は、特に過去の資料がレビューに利用できない場合や、形態学的評価で不明確な所見が得られた場合に、解釈の強力な裏付けとなります。この章では、肺への転移性腫瘍の一般的な種類と部位を、IHCを使用した原発性肺腫瘍との区別に焦点を当ててレビューします。

## IHCは転移性扁平上皮癌と原発性肺扁平上皮癌の鑑別に役立つか?

原発性肺扁平上皮癌 (SQCC: squamous cell carcinoma) を別の臓器に由来する転移性 SQCC と区別することは、異なる部位からの SQCC が明確な形態学的特徴を欠いているため、非常に困難となります。さらに、腫瘍の成長パターンと角質化の程度は、特に化学療法や放射線療法後に変化する場合があります。肺の転移性 SQCC と原発性 SQCC との区別を確実に補助できる IHC マーカーは存在しないため、臨床病理学的な相関関係が必要となります。肺腫瘍と肺外腫瘍の分子プロファイルを比較するための遺伝子検査は、腫瘍の鑑別に役立ちますが、通常の臨床診療では実行できないことが多いのです。高いリスクを持つヒトパピローマウイルス (HPV: human papilloma virus) の検出は、中咽頭、子宮頸部、外陰部、肛門、陰茎からの転移性 SQCC の鑑別診断で役立ちます。これは、このような部位からの腫瘍は、HPV+であることが多いためです (2016年 Plummer 氏他)。HPV 感染は原発性肺 SQCC では例外的であると考えられているため、腫瘍組織で HPV を検出する (たとえば、HPV の RNA または DNA の *in situ* ハイブリダイゼーション [ISH: *in situ* hybridization] または他の分子技術を使用して) ことは、これらの部位からの転移を強く裏付けします。p16 IHC は HPV に対する代替マーカーです。ただし、非小細胞癌 (NSCC: non-small cell carcinomas) の約 20% は、HPV 感染していないにもかかわらず、びまん性で強い p16 発現を示すため (2012年 Bishop 氏他、2015年 Chang 氏他)、このアプローチは完全に信頼できるわけではありません。☒16-1





**図16-1**：ヒトパピローマウイルス (HPV+) による中咽頭癌の既往がある患者の肺病変の針生検標本。(A) 形態学的特徴では、転移か原発性肺扁平上皮癌 (SQCC) かを区別することはできません。(B) びまん性で強度の高いp16免疫組織化学 (IHC) 染色は、転移性中咽頭癌を示唆しています。ただし、p16はHPV感染していない原発性肺癌でも過剰発現する場合がありますため、確定診断にはHPVの存在を確認するためにさらなる分子検査を行う必要があります。

は、HPV+中咽頭がんの肺転移の例であり、p16 IHCが陽性であることを示しています。p16を評価する際には厳密な診断基準を用いる必要があります。College of American Pathologistsによる中咽頭SQCCの評価に関するガイドライン (2018年Lewis氏他) によれば、少なくとも70%の核が存在し、少なくとも中程度の強度の細胞質の発現が見られる場合には、p16陽性であると考えられるべきであるとされています。

### まとめの回答

肺の原発性SQCCと転移性SQCCの区別を確実に補助できるIHCマーカーはありません。臨床病理学的な相関関係が必要となります。

### 消化管由来の転移性腫瘍と原発性肺腫瘍とを区別するのに役立つIHCマーカーとは？

消化 (GI: gastrointestinal) 管は肺転移の最も一般的な発生源であり、肺外由来のすべての肺病変の35%以上を占めています (2011年Casiraghi氏他)。肺転移の可能性を評価する場合、以前あった消化管腫瘍における病理の形態学的レビューをする際に、形態学的特徴を比較することを強くお勧めします。通常、ほとんどの肺腺癌がCK7+/CK20-プロファイルを示すのに対し、下部消化管癌は一貫してCK7-/CK20+の免疫表現型を示すことから、サイトケラチン7 (CK7: cytokeratin 7) およびサイトケラチン20 (CK20: cytokeratin 20) に対してIHCが有効となります (2008年Jagirdar氏、2008年Bahrami氏他)。しかし、膵胆道癌や上部消化管 (胃や食道) 癌では、CK7/CK20の標識が変動し、CK7-/CK20+、CK7+/CK20-、CK7+/CK20+のプロファイルを含む混合表現型を見られます (2018年Selves氏他)。肺と消化管のどちらに由来するかを確認するには、肺 (甲状腺転写因子1 [TTF1: thyroid transcription factor-1] やナプシンA) および消化管 (CDX2) に特異的なIHC染色を追加することが有効です (2008年Bahrami氏他、2008年Jagirdar氏)。TTF1およびモノクローナルナプシンA染色は、肺腺癌の約80%で陽性であり、消化管癌ではめったに発現しません (2012年Turner氏他、2010年Bishop氏他、2015年Rekhtman氏およびKazi氏、2012年bOrdonez氏、2011年Ye氏他)。逆に、CDX2は肺腺癌では低い割合で発現しますが、大部分の下部消化管癌では強く

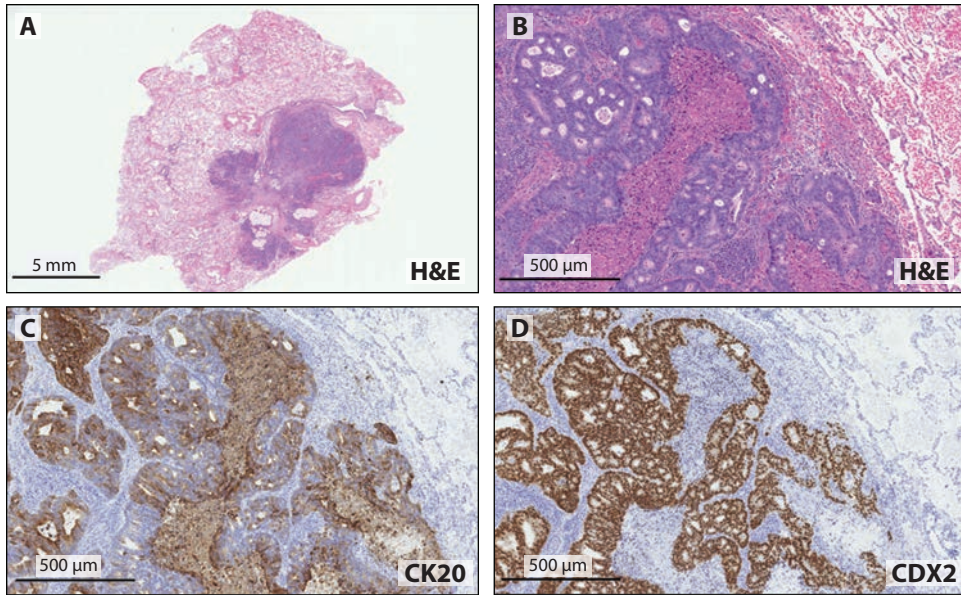


図16-2：(AおよびB) 大腸腺癌からの肺転移で、篩状腺と汚れた壊死(H&E)を特徴とします。予想通り、腫瘍はサイトケラチン20 (CK20)とCDX2の両方に対して強い陽性を示します (CおよびD)。

びまん的に陽性であり、膵胆道癌や上部消化管癌ではさまざまな免疫反応性を示します(2016年Cowan氏他、2003年Werling氏他、2004年Kaimaktchiev氏他)([図16-2](#))。注目すべきことに、CDX2は肺腺癌の腸内変異体で発現する場合があります(2018年Nottegar氏他)。これらの症例では、TTF1とナプシンAの両方の染色が陰性であることがよくありますが、ほとんどの場合CK7標識が見られるため、結腸転移との区別に役立つ場合があります。この状況では、原発性消化管腫瘍は臨床的に除外する必要があります。CDX2、TTF1、CK7/CK20マーカーは、原発性肺浸潤性粘液腺癌 においても異なるレベルで発現することがあり(CK7+、多くの場合CK20+、CDX2+、TTF1-)、臨床的および放射線学的な相関関係の重要性が強調されています(2018年Selves氏他)。新しいIHCマーカーである肝細胞核因子4α (HNF4α: hepatocyte nuclear factor 4α) は、ほとんどの原発性肺浸潤性粘液腺癌で発現しますが、原発性消化管分化転写因子であり、消化管癌および膵臓腺癌でも発現するため、これらの区別には役立ちません(2013年Sugano氏他)。

TTF1またはCDX2のいずれかの発現は、その高い特異性を考慮すると、高分化型神経内分泌腫瘍の発生源を確認するのに役立ちます(2018年Kyriakopoulos氏他)。CDX2免疫染色は、転移性空回腸腫瘍および虫垂神経内分泌腫瘍の91%および83%で認められていますが、十二指腸(31%)、胃(14%)、膵臓(16%)、直腸(29%)の腫瘍ではそれほど頻繁には認められていません(2004年Erickson氏他、2009年Srivastava氏およびHornick氏)。TTF1は、肺カルチノイドに対しても高い特異性を示しますが、これらの腫瘍では感度が33~46%の範囲に制限されています(2009年Srivastava氏およびHornick氏、2012年Chan氏他、2014年Zhang氏他)。注目すべきことに、TTF1マーカーとCDX2マーカーはどちらも、この腫瘍タイプでは特異性と感度が限られているため、小細胞癌では有効ではありません(2000年Kaufmann氏およびDietel氏、2000年Agoff氏他)。



## まとめの回答

サイトケラチン(CK7/CK20)、肺(TTF1/ナプシンA)、消化管(CDX2)マーカーに対するIHCの組み合わせは、消化管由来の転移を確認するのに有効です。TTF1/ナプシンA陰性の腫瘍では、CDX2に対して陽性であることは消化管からの転移を示唆しています。TTF1/ナプシンA/CDX2陰性の腫瘍では、CK7/CK20プロファイルが役立つ場合がありますが、通常、発生源を確認するには臨床のおよび放射線学的な相関関係が必要となります。

## 乳房由来の転移性癌と原発性肺癌を区別するのに有効なIHCマーカーとは？

原発性肺腺癌と肺に転移する乳癌とを区別することは、乳癌の発生率が高く、乳癌患者が肺癌を含む乳癌以外の二次悪性腫瘍を発症するリスクが高いことを考えると、よく遭遇する臨床的状況です(2006年Mellemkjaer氏他)。乳癌は、肺に見られる上皮性転移の中で3番目に頻度の高いタイプであり(2011年Casiraghi氏他)、原発性腫瘍と転移腫瘍を見分ける上での臨床病理学的な相関関係の重要性は、いくら強調しても過ぎることはありません。可能な場合、比較のために以前あった乳房病変の病理を確認することは非常に有効となります。ただし、乳房転移と原発性非小細胞肺癌との組織病理学的な区別は、特に低分化病変において、困難な場合があります。

肺癌と乳癌の両方の大多数は、同様のサイトケラチン発現プロファイル(CK7+/CK20-)を共有しており、組織発生を確認するには通常、追加の免疫染色が必要です(2000年Chu氏他)。乳房転移に有利に働く有用な染色は、エストロゲン受容体とプロゲステロン受容体に加えて、GATA3(感度:32~100%、特異度:71~93%)、マンマグロビン(感度:26~84%、特異度:85~100%)、総嚢胞性疾患流体タンパク質15(GCDFP-15: gross cystic disease fluid protein 15)(感度:15~74%、特異度:93~100%)に対する陽性染色です(2016年Hsu氏他)。【上記にまとめました】【同上】【同上】【同上】【同上】【同上】高分化型の癌では、TTF1陰性やナプシンA染色をエストロゲン受容体/プロゲステロン受容体陽性(ER: estrogen receptor/PR: progesterone receptor)と組み合わせることで、許容できる感度と特異性で乳房転移を区別することができます(2010年Yang氏およびNonaka氏、2019年Yatabe氏他、2016年Provenzano氏他)。このような状況では、ナプシンAを加えても、TTF1のみの感度と特異性がわずかに向上するだけで、限られた症例でしか役に立ちません(2010年Yang氏およびNonaka氏)。

通常、GATA3染色は、ER、PR、マンマグロビン、GCDFP-15と比較して優れた感度を示すため、乳房が発生源であることを特定するのに役立ちます(2016年Sangoi氏他、2016年Gown氏他、2018年Ni氏他)。しかし、GATA3は他の非乳癌、特に尿路上皮癌、および程度は低いですが膵臓癌、一部の皮膚癌などでも発現しているため、GATA3の特異性の低さに関しては注意が必要です(2014年Miettinen氏他)。GATA3(2019年Vidarsdottir氏他)およびER(2010年Yang氏およびNonaka氏)が肺腺癌で発現することはめったにありませんが、ごく一部の乳癌がTTF1を発現する場合があります(2012年bOrdonez氏)。したがって、肺病変があり、乳癌の既往歴がない患者に対しては、GATA3とマンマグロビンなどの乳癌に対して高い特異性を持つIHC染色を併用することが推奨されます(2010年Yang氏およびNonaka氏)。

最近では、SOX10がGATA3単体の特異性を大幅に向上させることから、トリプルネガティブ乳癌(TNBC: triple-negative breast carcinoma)からの転移を確認するための有用なマーカーとして注目されています(図16-3)。これらの腫瘍は乳癌の約10~20%を占



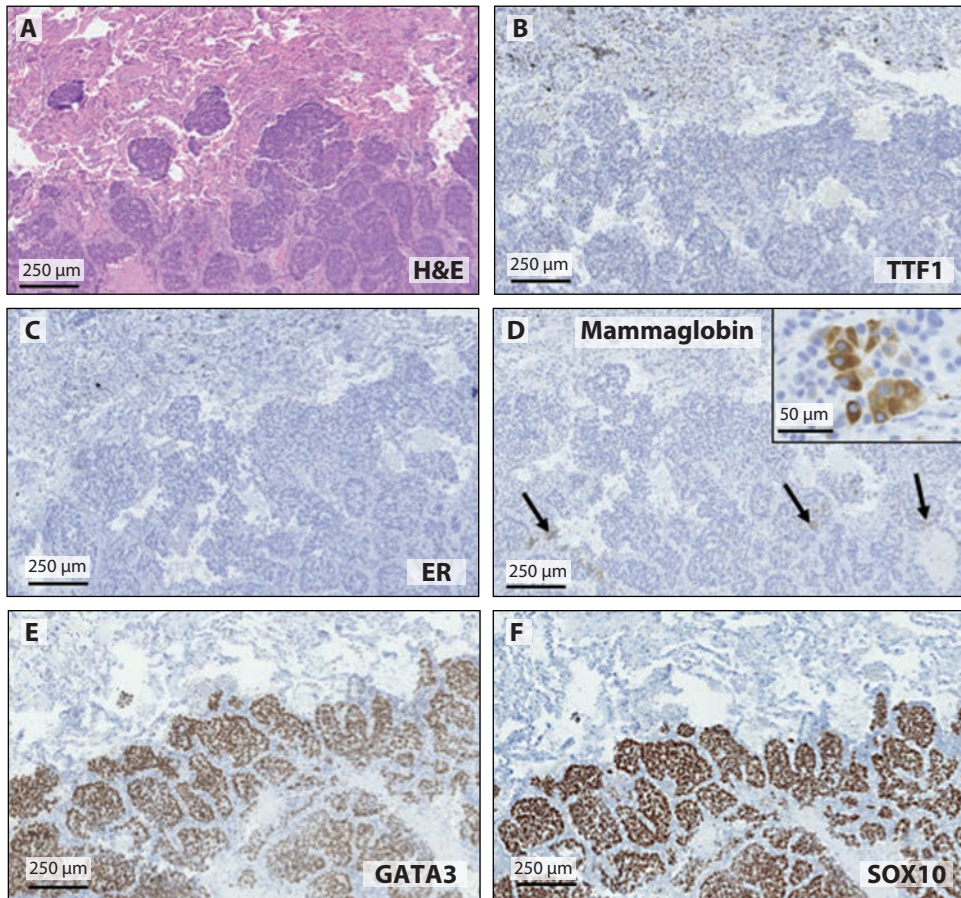


図16-3：(A～F) トリプルネガティブ乳癌からの肺転移。(B) 甲状腺転写因子1 (TTF1) および (C) エストロゲン受容体 (ER) は陰性です。(D) マンマグロビンに対する限局的な陽性 (矢印と挿入図)に加えて、(E) GATA3と (F) SOX10に対する強くびまん的な陽性を示しています。

め、肺転移のリスクが高く、ER/PRおよびヒト上皮成長因子受容体2 (HER2: human epidermal growth factor receptor 2) が存在しないことが特徴となっています (2010年Foulkes氏他)。TTF1/ナプシンA (陰性)、GATA3 (感度30.4%)、SOX10 (感度62.3%) の免疫陽性を併用することで、TNBCの大部分を特定できることが示されています (2019年Tozbikian氏およびZynger氏、2019年Laurent氏他)。

### まとめの回答

乳癌の病歴のある患者においては、可能な場合、原発性乳房腫瘍の組織学的特徴と比較することが推奨されます。TTF1やナプシンA、ER/PR、GATA3といった肺と乳房のマーカーを併用することで、ほとんどの症例において、明確な答えを得ることが出来ます。臨床的に関連がある場合、GATA3とマンマグロビンを併用して、膀胱癌などの乳房外悪性腫瘍を除外する必要があります。TNBCでは、転移性乳癌と原発性肺癌を区別するために、肺マーカーをGATA3およびSOX10の両方と併用することが推奨されます。

## 女性生殖管由来の転移性癌と原発性肺癌を区別するのに有効なIHCマーカーとは？

子宮頸部、子宮内膜、卵巣の腺癌の10～20%は、抗体のより特異的なクローンを使用してもTTF1の発現が認められるため、肺の女性生殖管からの転移性癌の診断は困難な場合があります(2008年Kubba氏他、2007年Siami氏他)([図16-4](#))。TTF1陽性は、子宮頸部および子宮内膜の中腎や中腎様腺癌で特に高い値を示します(2018年Pors氏他、2016年McFarland氏他)。さらに、すべての高悪性度の神経内分泌癌は、女性生殖管などの発生源に関係なく、TTF1陽性である場合があります。転移性の女性生殖管癌と原発性肺癌を区別するには、女性生殖管癌(子宮頸部扁平上皮癌を除く)のほとんどが陽性であるのに対し、肺癌はほとんど常に陰性であることから、PAX8が有効です(2011年Laury氏他、2019年McHugh氏他)。PAX8の発現は、腎臓、胸腺、甲状腺などの他の部位の腫瘍でも確認されています(2012年a Ordonez氏)。

### まとめの回答

肺腫瘍の鑑別診断に転移性の女性生殖管癌が含まれる場合、原発性肺腺癌と同様に、これらの腫瘍もTTF1を発現する可能性があるため、TTF1は注意して使用する必要があります。PAX8染色は、女性生殖管由来の転移性腫瘍を特定するのに有効です。

## 尿路上皮由来の転移性癌と原発性肺癌を区別するのに有効なIHCマーカーとは？

肺は膀胱から転移する最も一般的な部位の一つであり(1979年Goldman氏他、1999年Wallmeroth氏他、1980年Babaian氏他)、尿路上皮癌は膀胱癌の最も一般的なタイプで、腫瘍の90%以上を占めています(2016年Moch氏他)。肺の非角化性SQCCの中には、形態的に従来尿路上皮癌と類似しているものがあるため、形態学的特徴の評価や既知の原発腫瘍との比較だけでは、原発部位の特定には十分ではない可能性があります(2015年Travis氏他)。さらに、尿路上皮癌の最大60%で扁平上皮癌が認められます(2009年Amin氏)。転移性尿路上皮癌と原発性肺癌との区別は、特に低分化の腫瘍では困難な場合がありますが、いくつかの研究では、免疫組織化学的マーカーが有効な補助手段となることが示されています。

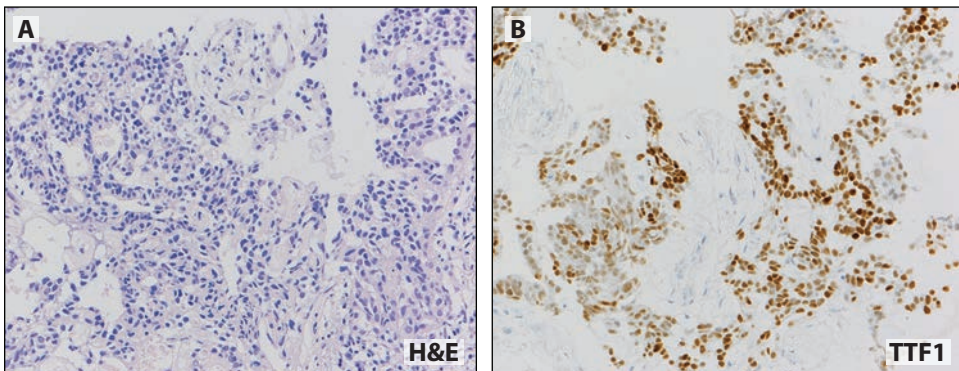


図16-4：(AおよびB) 甲状腺転写因子1 (TTF1) の発現を示す子宮頸部からの転移性腺癌。



CK7、CK20、GATA3は、肺のSQCCよりも尿路上皮癌において陽性になりやすく(それぞれ100%対33%、54%対7%、78%対23%) (図16-5)、対照的にCK14、デスモグレイン3は、尿路上皮癌よりも肺SQCCで陽性になりやすくなっています(それぞれ77%対32%、87%対11%) (2012年Gruver氏他)。

ウロプラキンIIIは尿路上皮癌に対して特異的ですが、感度はそれほど高くありません(陽性はわずか14%) (2012年Gruver氏他)。尿路上皮癌では、ウロプラキンIIがウロプラキンIIIよりも感度の高いマーカーであることが報告されています(2014年Li氏他、2015年Hoang氏他)、このマーカーの役割は十分に確立されていません。尿路上皮癌と肺SQCCの大部分では、扁平上皮マーカーであるp40とp63が陽性であり(2012年Gruver氏他、2013年Gailey氏およびBellizzi氏)、一方でPAX8は陰性であるため(2011年Laury氏他)、これらのIHCマーカーはこれらの腫瘍タイプの区別には有効ではありません。

### まとめの回答

転移性尿路上皮癌と肺SQCCの区別には、CK7、CK20、GATA3の組み合わせが最も有効です。

### 腎臓由来の転移性癌と原発性肺癌を区別するのに有効なIHCマーカーとは？

転移性腎癌は原発性非小細胞肺癌に似た症状を呈する場合があります、既知の原発腫瘍との形態学的な比較に加えて、IHCはその区別に役立ちます。腎細胞癌ではナプシンAが陽性となる場合があります(乳頭癌では約80%、従来 of 明細胞癌では約40%)、腎細胞癌ではほとんどの症例(90%以上)でPAX8が発現しており(図16-6)、肺腺癌では稀な発現(0~2%)であることと対照的となっています。さらに、肺に転移する最も一

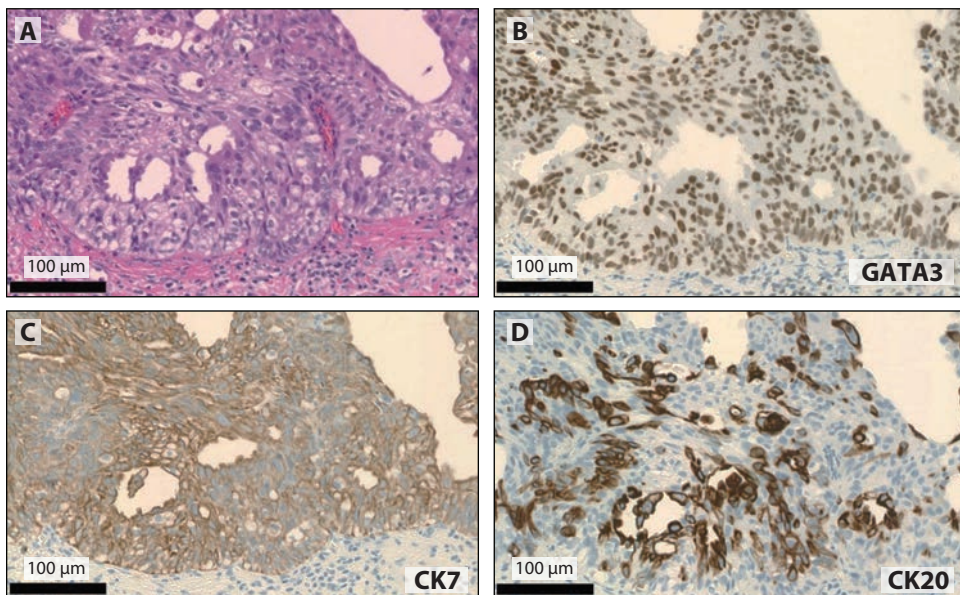
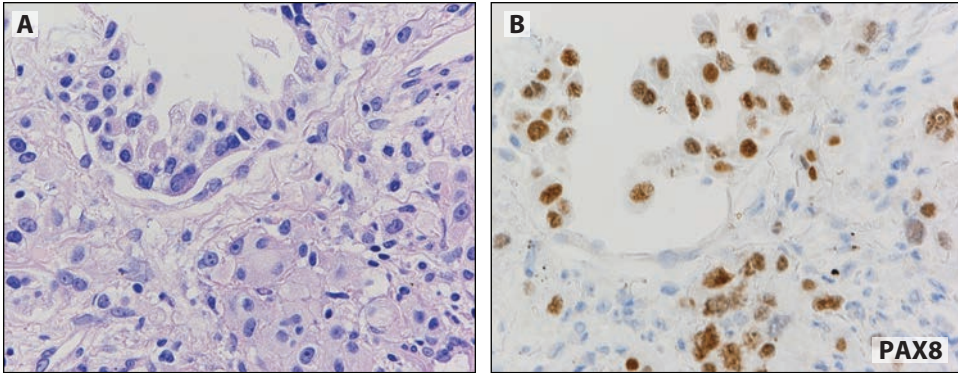


図16-5 : (A~D) 転移性尿路上皮癌 [A] H&E) は、肺扁平上皮癌よりも (B) GATA3、 (C) サイトケラチン7 (CK7)、 (D) サイトケラチン20 (CK20) に対してより陽性率が高くなります。





**図16-6：(AおよびB)** 腎細胞癌の転移〔A〕 H&E〕。腫瘍は、腺房および充実性増殖のパターンを持つ肺腺癌に似た症状を呈します。しかし、この患者には腎明細胞癌の既往歴があります。(B) PAX8免疫組織化学(IHC)は強い核染色を示し、これは転移性腎細胞癌であることを示唆しています。

一般的なサブタイプであるほぼすべての明細胞腎細胞癌は、炭酸脱水酵素IX (CA IX: carbonic anhydrase IX) に対して陽性となります。TTF1はほとんどの肺腺癌で発現しますが、腎細胞癌では陰性です(2010年Bishop氏他)。CD10は、肺腺癌といったさまざまな癌でも発現しているため、転移性腎細胞癌の特定には有効ではありません(2012年Gurel氏他)。

### まとめの回答

PAX8およびTTF1は、転移性腎細胞癌(PAX8+/TTF1-)と原発性肺腺癌(PAX8-/TTF1±)を区別するのに有効です。ナプシンAは、腎細胞癌のさまざまな部分で発現するため、このような状況では有効ではありません。

### 前立腺由来の転移性癌と原発性肺癌を区別するのに有効なIHCマーカーとは？

転移性前立腺癌は比較的一般的な症例であり、1589年に行われた剖検例の研究では、肺は骨に次いで2番目に一般的な転移部位(46%)となっています(2000年Bubendorf氏他)。形態学的な特徴は、腫瘍の前立腺由来を特定するのに役立つ場合があります。通常、肺転移病変において微小腺房または管状乳頭状のパターンを示します(2002年Copeland氏他)([図16-7](#))。

肺転移性腫瘍の前立腺由来を特定するために有効なIHCマーカーがいくつかあります。低分子量サイトケラチンであるCK7およびCK20は、前立腺腺癌が通常CK7とCK20の両方に対して陰性(80%以上)であるため有効です(2000年Bassily氏他)([図16-8](#))。加えて、TTF1はほとんどの場合、前立腺腺癌では陰性となります(2002年Goldstein氏)。

前立腺特異抗原(PSA: Prostatic-specific antigen)、前立腺特異的酸性フォスファターゼ(PSAP: prostatic-specific acid phosphatase)、前立腺特異的膜抗原(PSMA: prostate-specific membrane antigen)は、前立腺腺癌における高感度かつ特異的な細胞質マーカーとして長年使用されてきましたが、低分化腫瘍では染色強度が弱くなるが多くなります(2007年Chuang氏他、2005年Varma氏およびJasani氏)。転移性前立腺腺癌の検出

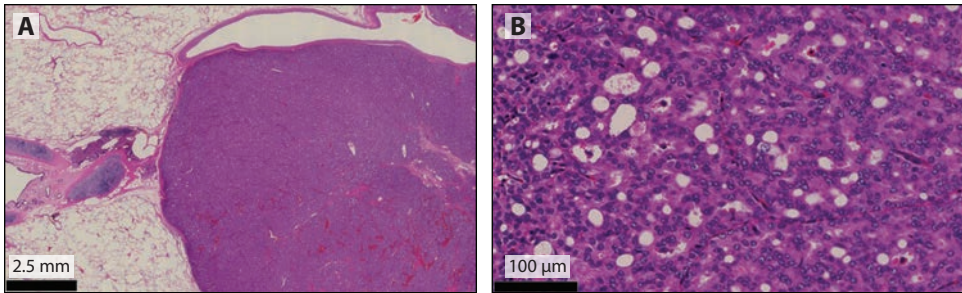


図16-7：(AおよびB) 肺における転移性前立腺腺癌の典型的なパターン。(A) リンパ管に浸潤した境界のはっきりした腫瘍。(B) 篩状腺形成を伴う微小腺房パターン。

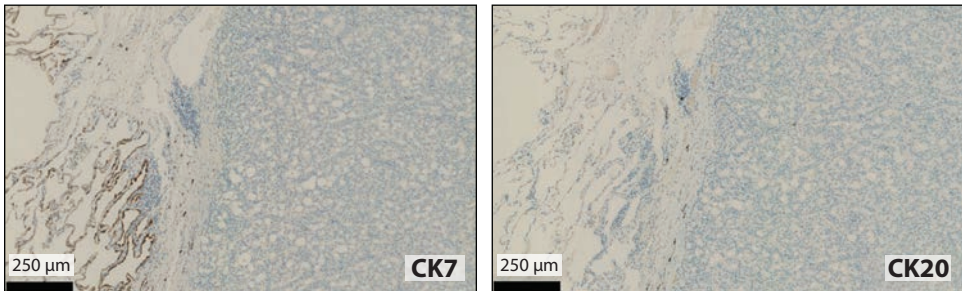


図16-8：(AおよびB) 転移性前立腺腺癌は、ほとんどの場合、サイトケラチン7 (CK7)とサイトケラチン20 (CK20)の両方に対して陰性です。

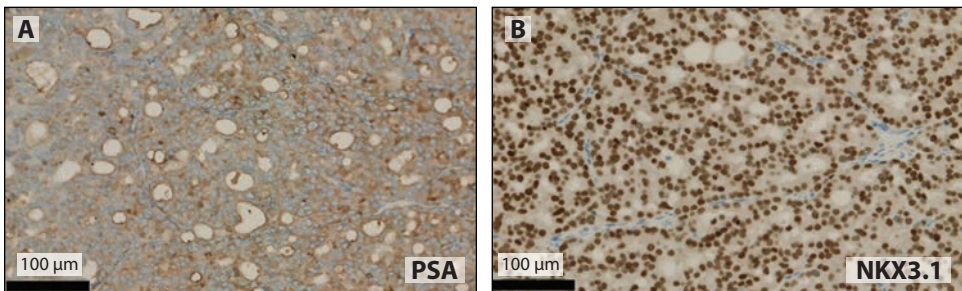


図16-9：転移性前立腺腺癌は、(A) 細胞質の前立腺特異抗原(PSA)に対して陽性であり、(B) 核のNKX3.1に対して強い陽性を示します。

率は、PSMAで約85%、PSAで80%、PSAPで60%です(2017年Kristiansen氏他、1985年Steffens氏他)。

NK3ホメオボックス1 (NKX3.1: NK3 homeobox 1)は、アンドロゲンによって制御されるホメオドメイン遺伝子であり、前立腺上皮において特徴的に発現します(2008年Abate-Shen氏他)。NKX3.1 IHCは前立腺腺癌の高感度の核マーカー(98%以上で陽性)であり、いくつかの研究により、NKX3.1がPSAおよびPSAPよりも高感度かつ特異的なマーカーであると報告されています(2010年Gurel氏他、2019年Gan氏他)([図16-9](#))。

### まとめの回答

CK7、CK20、TTF1陰性と、NKX3.1などの前立腺マーカーの陽性染色と組み合わせることで、転移性前立腺癌を特定することができます。



## 肝臓由来の転移性癌と原発性肺癌を区別するのに有効なIHCマーカーとは？

肺の転移性肝細胞癌(HCC: hepatocellular carcinoma)の診断は、HCCが低分化型の非小細胞肺癌に似た症状を呈する場合があるため、場合によっては困難なことがあります。p40、CK7、神経内分泌マーカーはHCCにおいて常に陰性ですが、TTF1は核染色ではなく異常な細胞質反応を示す場合があります。肝細胞パラフィン1(HepPar1: Hepatocyte paraffin 1)、アルギナーゼ1、グリピカン3は、HCCを特定するための有効なIHCマーカーであり(図16-10、16-11)、アルギナーゼ1とHepPar1は高分化型腫瘍に対して最も感度が高く、アルギナーゼ1とグリピカン3は低分化型腫瘍に対して最も感度が高くなります(2015年Nguyen氏他)。しかし最近、HCCに類似しており、HepPar1、アルギナーゼ1、 $\alpha$ -フエトプロテイン(AFP:  $\alpha$ -fetoprotein)に対して陽性となる、肺の原発性肝様腺癌が報告されています(2014年Haninger氏他、2016年Chandan氏他)。肺肝様腺癌とHCCの転移を区別するには、臨床病理学的な相関関係を慎重に検討し、CK7染色が陽性であることが必要です。

### まとめの回答

アルギナーゼ1やHepPar1などの肝細胞マーカーとCK7陰性および肺マーカーを組み合わせることで、転移性HCCを特定することができます。

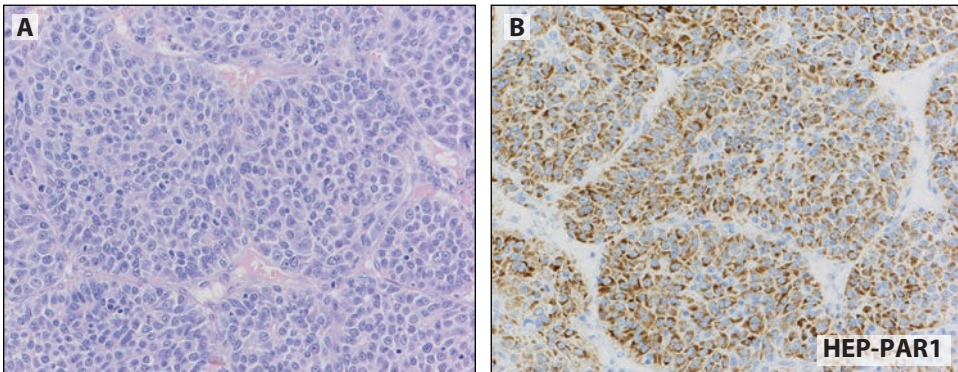


図16-10：(AおよびB) 肝細胞癌の肺転移。(A) H&E。腫瘍細胞の充実性増殖は、悪性度の高い非小細胞肺癌(NSCC)に似た症状を呈します。ただし、この腫瘍はp40、甲状腺転写因子1(TTF1)、サイトケラチン(CK7)、神経内分泌マーカーに対して陰性となりました。(B) 肝細胞パラフィン1(HepPar1)(免疫組織化学[IHC])が陽性であるため、転移性肝細胞癌(HCC)と診断されました。患者は血清B型肝炎表面抗原(HB: hepatitis B)抗体に陽性でした。

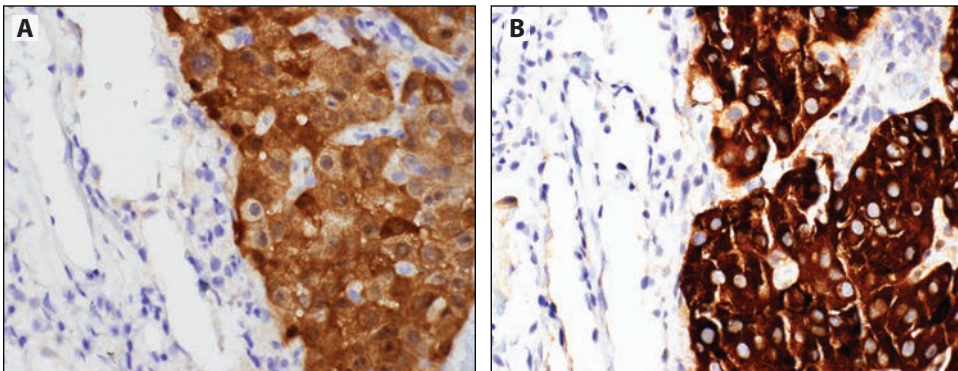


図16-11：(A) アルギナーゼ1および (B) グリピカン3に対して強い染色を示す肝細胞癌。



### 甲状腺由来の転移性癌と原発性肺癌を区別するのに有効なIHCマーカーとは？

転移性甲状腺癌は、非小細胞肺癌 (NSCLC: non-small cell lung carcinoma) と形態的特徴が重なることがあります。TTF1は、ほとんどの甲状腺癌 (ほとんどが陰性である退形成性癌を除く) およびほとんどの肺腺癌で発現しますが、ナプシンAは通常、甲状腺腫瘍では陰性となります (2008年Nonaka氏他、2010年Bishop氏他)。PAX8は、甲状腺、副甲状腺、胸腺、腎臓、および女性生殖管由来の腫瘍で発現する核マーカーですが、肺腺癌では陰性です (2012年a Ordonez氏、) (図16-12および16-13)。

#### まとめの回答

ナプシンAが存在しない状況下で、PAX8とTTF1陽性を使用することは、転移性甲状腺癌の特定に役立ちます。

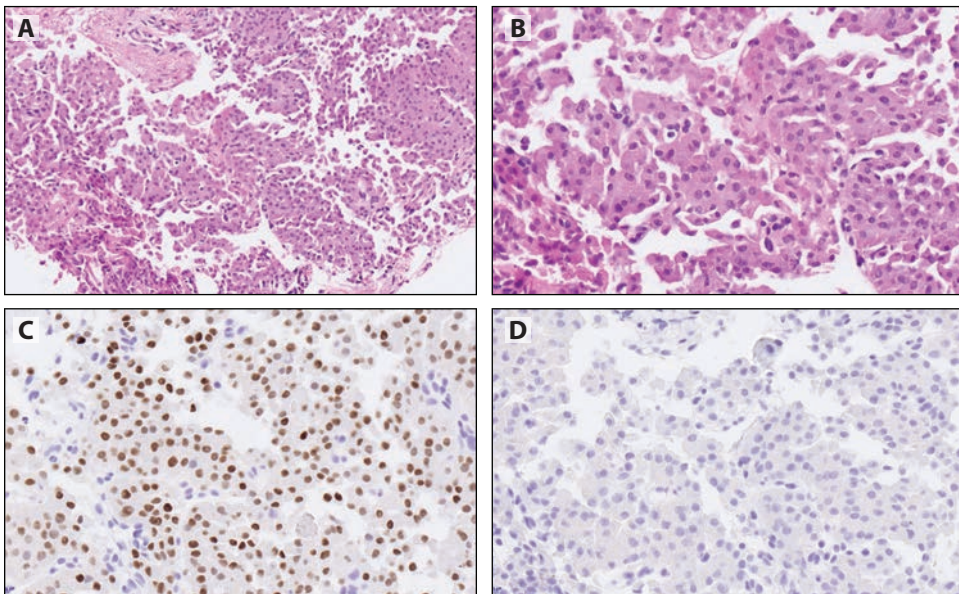


図16-12：まれに、甲状腺転写因子1 (TTF1) 陽性の腫瘍は、病歴に応じて追加の免疫組織化学的精密検査が必要になることがあります。(AおよびB) この細胞学的に特に特長のない膨大細胞癌腫瘍 (A) H&Eは、(C) 強いTTF1発現を示しました。(D) ナプシンA (モノクローナル) は陰性です。

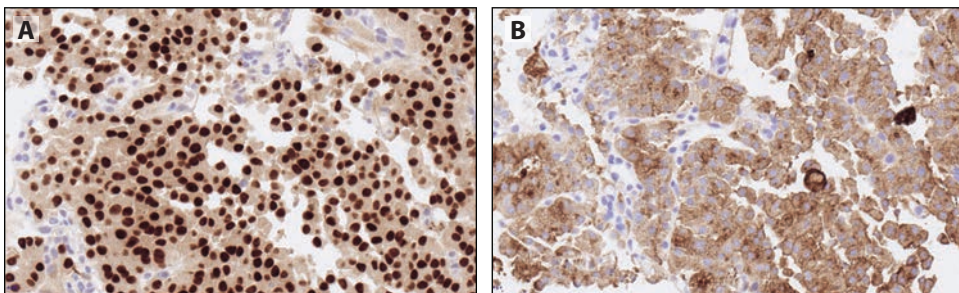


図16-13：図16-12に示した症例では、甲状腺腫瘍の臨床情報が得られた後に、追加の免疫染色を集中的に行いました。(A) PAX8と (B) サイログロブリンの免疫組織化学 (IHC) 陽性により、これが甲状腺腫瘍からの転移であることが証明されました。

## 結論

原発性腫瘍と転移性腫瘍を区別するためには、正確な病歴を把握しつつ肺の腫瘍を徹底的に形態学的に評価し、他の部位の腫瘍の病理所見と比較することが重要であるが、この方法では確定診断に至らないこともあります。肺の原発性腫瘍と転移性腫瘍を正確に区別することは、患者の適切な管理のために非常に重要であり、多くの症例において、肺転移の確認または除外のためにIHCが必要となります。腫瘍の発生源を決定する完璧な精度を持つIHCマーカーは存在しないため、病理医は、より正確な診断を実現するために使用できるさまざまなIHCマーカーの長所、限界、ピットフォールを認識する必要があります。

## 参考文献

- Abate-Shen C, Shen MM, Gelmann E. Integrating differentiation and cancer: the Nkx3.1 homeobox gene in prostate organogenesis and carcinogenesis. *Differentiation*. 2008;76(6):717-727.
- Agoff SN, Lamps LW, Philip AT, et al. Thyroid transcription factor-1 is expressed in extrapulmonary small cell carcinomas but not in other extrapulmonary neuroendocrine tumors. *Mod Pathol*. 2000;13(3):238-242.
- Amin MB. Histological variants of urothelial carcinoma: diagnostic, therapeutic and prognostic implications. *Mod Pathol*. 2009;22(suppl 2):S96-S118.
- Babaian RJ, Johnson DE, Llamas L, et al. Metastases from transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Urology*. 1980;16(2):142-144.
- Bahrami A, Truong LD, Ro JY. Undifferentiated tumor: true identity by immunohistochemistry. *Arch Pathol Lab Med*. 2008;132(3):326-348.
- Bassily NH, Vallorosi CJ, Akdas G, et al. Coordinate expression of cytokeratins 7 and 20 in prostate adenocarcinoma and bladder urothelial carcinoma. *Am J Clin Pathol*. 2000;113(3):383-388.
- Bishop JA, Ogawa T, Chang X, et al. HPV analysis in distinguishing second primary tumors from lung metastases in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2012;36(1):142-148.
- Bishop JA, Sharma R, Illei PB. Napsin A and thyroid transcription factor-1 expression in carcinomas of the lung, breast, pancreas, colon, kidney, thyroid, and malignant mesothelioma. *Hum Pathol*. 2010;41(1):20-25.
- Bubendorf L, Schopfer A, Wagner U, et al. Metastatic patterns of prostate cancer: an autopsy study of 1,589 patients. *Hum Pathol*. 2000;31(5):578-583.
- Casiraghi M, De Pas T, Maisonneuve P, et al. A 10-year single-center experience on 708 lung metastasectomies: the evidence of the "International Registry of Lung Metastases." *J Thorac Oncol*. 2011;6(8):1373-1378.
- Chan ES, Alexander J, Swanson PE, et al. PDX-1, CDX-2, TTF-1, and CK7: a reliable immunohistochemical panel for pancreatic neuroendocrine neoplasms. *Am J Surg Pathol*. 2012;36(5):737-743.
- Chandan VS, Shah SS, Torbenson MS, et al. Arginase-1 is frequently positive in hepatoid adenocarcinomas. *Hum Pathol*. 2016;55:11-16.
- Chang SY, Keeney M, Law M, et al. Detection of human papillomavirus in non-small cell carcinoma of the lung. *Hum Pathol*. 2015;46(11):1592-1597.
- Chu P, Wu E, Weiss LM. Cytokeratin 7 and cytokeratin 20 expression in epithelial neoplasms: a survey of 435 cases. *Mod Pathol*. 2000;13(9):962-972.
- Chuang AY, DeMarzo AM, Veltri RW, et al. Immunohistochemical differentiation of high-grade prostate carcinoma from urothelial carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2007;31(8):1246-1255.
- Copeland JN, Amin MD, Humphrey PA, et al. The morphologic spectrum of metastatic prostatic adenocarcinoma to the lung: special emphasis on histologic features overlapping with other pulmonary neoplasms. *Am J Clin Pathol*. 2002;117(4):552-557.
- Cowan ML, Li QK, Illei PB. CDX-2 expression in primary lung adenocarcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2016;24(1):16-19.
- Erickson LA, Papouchado B, Dimashkieh H, et al. CDX2 as a marker for neuroendocrine tumors of unknown primary sites. *Endocr Pathol*. 2004;15(3):247-252.
- Foulkes WD, Smit IE, Reis-Filho JS. Triple-negative breast cancer. *N Engl J Med*. 2010;363(20):1938-1948.
- Gailey MP, Bellizzi AM. Immunohistochemistry for the novel markers glypican 3, PAX8, and p40 ( $\Delta$ Np63) in squamous cell and urothelial carcinoma. *Am J Clin Pathol*. 2013;140(6):872-880.
- Gan Q, Joseph CT, Guo M, et al. Utility of NKX3.1 immunostaining in the detection of metastatic prostatic carcinoma on fine-needle aspiration smears. *Am J Clin Pathol*. 2019;152(4):495-501.
- Goldman SM, Fajardo AA, Naraval RC, et al. Metastatic transitional cell carcinoma from the bladder: radiographic manifestations. *AJR Am J Roentgenol*. 1979;132(3):419-425.

- Goldstein NS. Immunophenotypic characterization of 225 prostate adenocarcinomas with intermediate or high Gleason scores. *Am J Clin Pathol*. 2002;117(3):471-477.
- Gown AM, Fulton RS, Kandalaf PL. Markers of metastatic carcinoma of breast origin. *Histopathology*. 2016;68(1):86-95.
- Gruver AM, Amin MB, Luthringer DJ, et al. Selective immunohistochemical markers to distinguish between metastatic high-grade urothelial carcinoma and primary poorly differentiated invasive squamous cell carcinoma of the lung. *Arch Pathol Lab Med*. 2012;136(11):1339-1446.
- Gurel B, Ail TZ, Montgomery EA, et al. NKX3.1 as a marker of prostatic origin in metastatic tumors. *Am J Surg Pathol*. 2010;34(8):1097-1105.
- Gurel D, Kargi A, Karaman I, et al. CD10 expression in epithelial and stromal cells of non-small cell lung carcinoma (NSCLC): a clinic and pathologic correlation. *Pathol Oncol Res*. 2012;18(2):153-160.
- Haninger DM, Kloecker GH, Bousamra Ii M, et al. Hepatoid adenocarcinoma of the lung: report of five cases and review of the literature. *Mod Pathol*. 2014;27(4):535-542.
- Hoang LL, Tacha D, Bremer RE, et al. Uroplakin II (UPII), GATA3, and p40 are highly sensitive markers for the differential diagnosis of invasive urothelial carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2015;23(10):711-716.
- Hsu C, Chiang AW, Hwang MJ, et al. Proteins with highly evolvable domain architectures are nonessential but highly retained. *Mol Biol Evol*. 2016;33(5):1219-1230.
- Jagirdar J. Application of immunohistochemistry to the diagnostic of primary and metastatic carcinoma to the lung. *Arch Pathol Lab Med*. 2008;132(3):384-396.
- Kaimaktchiev V, Terracciano L, Tornillo L, et al. The homeobox intestinal differentiation factor CDX2 is selectively expressed in gastrointestinal adenocarcinomas. *Mod Pathol*. 2004;17(11):1392-1399.
- Kaufmann O, Dietel M. Expression of thyroid transcription factor-1 in pulmonary and extra pulmonary small cell carcinomas and other neuroendocrine carcinomas of various primary sites. *Histopathology*. 2000;36(5):415-420.
- Kristiansen I, Stephan C, Jung K, et al. Sensitivity of HOXB13 as a diagnostic immunohistochemical marker of prostatic origin in prostate cancer metastases: comparison to PSA, prostatein, androgen receptor, ERG, NKX3.1, PSAP, and PSMA. *Int J Mol Sci*. 2017;18(6):E1151.
- Kubba LA, McCluggage WG, Liu J, et al. Thyroid transcription factor-1 expression in ovarian epithelial neoplasms. *Mod Pathol*. 2008;21(4):485-490.
- Kyriakopoulos G, Mavroei V, Chatzellis E, et al. Histopathological, immunohistochemical, and genetic and molecular markers of neuroendocrine neoplasms. *Ann Transl Med*. 2018;6(12):252.
- Laurent E, Begueret H, Bonhomme B, et al. SOX10, GATA3, GCDFFP15, androgen receptor, and mammaglobin for the differential diagnosis between triple-negative breast cancer and TTF1-negative lung adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2019;43(3):293-302.
- Laury AR, Perets R, Piao H, et al. A comprehensive analysis of PAX8 expression in human epithelial tumors. *Am J Surg Pathol*. 2011;35(6):816-826.
- Lewis JS Jr, Beadle B, Bishop JA, et al. Human papillomavirus testing in head and neck carcinomas: guideline from the College of American Pathologists. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(5):559-597.
- Li W, Liang Y, Deavers MT, et al. Uroplakin II is a more sensitive immunohistochemical marker than uroplakin III in urothelial carcinoma and its variants. *Am J Clin Pathol*. 2014;142(6):864-871.
- McFarland M, Quick CM, McCluggage WG. Hormone receptor-negative, thyroid transcription factor 1-positive uterine and ovarian adenocarcinomas: report of a series of mesonephric-like adenocarcinomas. *Histopathology*. 2016;68(7):1013-1020.
- McHugh KE, Arrossi AV, Farver CF, et al. Does strong and diffuse PAX-8 positivity occur in primary lung carcinoma? An immunohistochemical study of 418 cases and review of the literature. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2019;27(2):140-146.
- Mellemkjaer L, Friis S, Olsen JH, et al. Risk of second cancer among women with breast cancer. *Int J Cancer*. 2006;118(9):2285-2292.
- Miettinen M, McCue PA, Sarlomo-Rikala M, et al. GATA3: a multispecific but potentially useful marker in surgical pathology: a systematic analysis of 2500 epithelial and nonepithelial tumors. *Am J Surg Pathol*. 2014;38(1):13-22.
- Moch H, Humphrey PA, Ulbright TM, et al. *WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs*. 4th ed. World Health Organization; 2016.
- Nguyen T, Phillips D, Jain D, et al. Comparison of 5 immunohistochemical markers of hepatocellular differentiation for the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Arch Pathol Lab Med*. 2015;139(8):1028-1034.
- Ni YB, Tsang JYS, Shao MM, et al. GATA-3 is superior to GCDFFP-15 and mammaglobin to identify primary and metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2018;169(1):25-32.
- Nonaka D, Tang Y, Chiriboga L, et al. Diagnostic utility of thyroid transcription factors Pax8 and TTF-2 (FoxE1) in thyroid epithelial neoplasms. *Mod Pathol*. 2008;21(2):192-200.



- Nottegar A, Tabbo F, Luchini C, et al. Pulmonary adenocarcinoma with enteric differentiation: immunohistochemistry and molecular morphology. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2018;26(6):383-387.
- Ordonez NG. Value of PAX8 immunostaining in tumor diagnosis: a review and update. *Adv Anat Pathol*. 2012;19(3):140-151. (a)
- Ordonez NG. Value of thyroid transcription factor-1 immunostaining in tumor diagnosis: a review and update. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2012;20(5):429-444. (b)
- Plummer M, de Martel C, Vignat J, et al. Global burden of cancers attributable to infections in 2012: a synthetic analysis. *Lancet Glob Health*. 2016;4(9):e609-616.
- Pors J, Cheng A, Leo JM, et al. A comparison of GATA3, TTF1, CD10, and calretinin in identifying mesonephric and mesonephric-like carcinomas of the gynecologic tract. *Am J Surg Pathol*. 2018;42(12):1596-1606.
- Provenzano E, Byrne DJ, Russell PA, et al. Differential expression of immunohistochemical markers in primary lung and breast cancers enriched for triple-negative tumours. *Histopathology*. 2016;68(3):367-377.
- Rekhtman N, Kazi S. Nonspecific reactivity of polyclonal napsin A antibody in mucinous adenocarcinomas of various sites: a word of caution. *Arch Pathol Lab Med*. 2015;139(4):434-436.
- Sangoi AR, Shrestha B, Yang G, et al. The novel marker GATA3 is significantly more sensitive than traditional markers mammaglobin and GCDFP15 for identifying breast cancer in surgical and cytology specimens of metastatic and matched primary tumors. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2016;24(4):229-237.
- Selves J, Long-Mira E, Mathieu MC, et al. Immunohistochemistry for diagnosis of metastatic carcinomas of unknown primary site. *Cancers (Basel)*. 2018;10(4):E108.
- Siami K, McCluggage WG, Ordonez NG, et al. Thyroid transcription factor-1 expression in endometrial and endocervical adenocarcinomas. *Am J Surg Pathol*. 2007;31(7):1759-1763.
- Srivastava A, Hornick JL. Immunohistochemical staining for CDX-2, PDX-1, NESP-55, and TTF-1 can help distinguish gastrointestinal carcinoid tumors from pancreatic endocrine and pulmonary carcinoid tumors. *Am J Surg Pathol*. 2009;33(4):626-632.
- Steffens J, Friedmann W, Lobeck H. Immunohistochemical diagnosis of the metastasizing prostatic carcinoma. *Eur Urol*. 1985;11(2):91-94.
- Sugano M, Nagasaka T, Sasaki E, et al. HNF4 $\alpha$  as a marker for invasive mucinous adenocarcinoma of the lung. *Am J Surg Pathol*. 2013;37(2):211-218.
- Tozbikian GH, Zynger DL. A combination of GATA3 and SOX10 is useful for the diagnosis of metastatic triple-negative breast cancer. *Hum Pathol*. 2019;85:221-227.
- Travis WD, Brambilla E, Burke AP, et al. *WHO Classification of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart*. 4th ed. International Agency for Research on Cancer (IARC) Press; 2015.
- Turner BM, Cagel PT, Sainz IM, et al. Napsin A, a new marker for lung adenocarcinoma, is complementary and more sensitive and specific than thyroid transcription factor 1 in the differential diagnosis of primary pulmonary carcinoma: evaluation of 1674 cases by tissue microarray. *Arch Pathol Lab Med*. 2012;136(2):163-171.
- Varma M, Jasani B. Diagnostic utility of immunohistochemistry in morphologically difficult prostate cancer: review of current literature. *Histopathology*. 2005;47(1):1-16.
- Vidarsdottir H, Tran L, Nodin B, et al. Immunohistochemical profiles in primary lung cancers and epithelial pulmonary metastases. *Hum Pathol*. 2019;84:221-230.
- Wallmeroth A, Wagner U, Moch H, et al. Patterns of metastasis in muscle-invasive bladder cancer (pT2-4): an autopsy study on 367 patients. *Urol Int*. 1999;62(2):69-75.
- Werling RW, Yaziji H, Bacchi CE, et al. CDX2, a highlight sensitive and specific marker of adenocarcinomas of intestinal origin: an immunohistochemical survey of 476 primary and metastatic carcinomas. *Am J Surg Pathol*. 2003;27(3):303-310.
- Yang M, Nonaka D. A study of immunohistochemical differential expression in pulmonary and mammary carcinomas. *Mod Pathol*. 2010;23(5):654-661.
- Yatabe Y, Dacic S, Borczuk AC, et al. Best practices recommendations for diagnostic immunohistochemistry in lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2019;14(3):377-407.
- Ye J, Findeis-Hosey JJ, Yang Q, et al. Combination of napsin A and TTF-1 immunohistochemistry helps in differentiating primary lung adenocarcinoma from metastatic carcinoma in the lung. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2011;19(4):313-317.
- Zhang C, Schmidt LA, Hatanaka K, et al. Evaluation of napsin A, TTF-1, p63, p40, and CK5/6 immunohistochemical stains in pulmonary neuroendocrine tumors. *Am J Clin Pathol*. 2014;142(3):320-324.

# 中皮腫および免疫組織化学

# 17

執筆著者：Mauro Papotti, Andrew G. Nicholson, Sanja Dacic

## はじめに

悪性胸膜中皮腫(MPM: malignant pleural mesothelioma)は、類上皮、肉腫様、および二相性の亜類型に分類される、不均一な形態を呈する非常に悪性度の高い胸膜原発腫瘍です。他の腫瘍、特にこの部位に転移することが多い癌腫と形態的に重複しているため、診断は免疫表現型マーカー評価によって確認する必要があります。国際ガイドラインでは、少なくとも2つの陽性中皮腫マーカーと2つの非中皮腫マーカーを免疫組織化学染色(IHC: immunohistochemistry)を使用して評価することを推奨しています。この目的に使用する理想的なマーカーパネルは、悪性増殖の類上皮または肉腫様の形態に応じて異なる場合があります(2016年Galateau-Salle氏他、2018年Churg氏他、2019年Chapel氏他、2020年Nicholson氏他)。マーカーパネルの選択では、サンプルの種類(胸膜生検、手術標本、胸水細胞診)の影響を受けることはありません。これは、すべてのマーカーパネルがホルマリン固定サンプルとアルコール固定サンプルの両方で良好な結果を示すためです。

## 類上皮MPMと癌腫を区別するための最良のマーカーとは?

類上皮MPMと腺癌の鑑別診断で使用できる免疫組織化学マーカーが多数市販されています。類上皮MPMは、ほとんどの「中皮腫関連」マーカーをびまん性かつ頻繁に強く発現させます。陽性の中皮腫マーカーの最良の組み合わせの1つは、カルレチニンとウィルムス腫瘍タンパク質1(WT1: Wilms tumor protein 1)で、診断精度は最大87%と報告されており、サイトケラチン5/6(CK5/6: cytokeratin 5/6)とD2-40がそれに続きます。腺癌を診断する際に最も一般的に使用されるマーカーは、クローディン4、MOC31、モノクローナル癌胎児抗原(CEA: carcinoembryonic antigen)、B72.3、Ber-EP4、BG8です。甲状腺転写因子1(TTF1: thyroid transcription factor-1)とナプシンAは、肺腺癌の診断に役立ちます。CDX2(胃腸)、PAX8(腎細胞、胸腺癌、卵巣)、NKX3.1(前立腺)、または総嚢胞性疾患流体タンパク質(GCDFP: gross cystic disease fluid protein)やマンマグロビンといったプレストマーカーなど、形態や臨床歴に応じて他のマーカーを検討することができます。扁平上皮癌の場合、中皮腫は限局的に陽性であることがまれにあるため、p40またはp63の強力かつびまん性の核陽性が非常に有用となります。

類上皮MPM内のカルレチニン染色は、強力でびまん性を有することが多く、核と細胞質の両方に存在し(図17-1)、感度は97%、特異度は87%と報告されています(2016年Galateau-Salle氏他、2020年Le Stang氏他)。腺癌の約5~10%がカルレチニンを発現する可能性があります。染色は通常弱く、限局的であり、細胞質になる傾向があります。

WT1は、類上皮MPMでびまん性の核発現を表し、感度は88%、特異度は94%と報告されています(2020年Le Stang氏他)。WT1抗体は、内皮細胞のタンパク質を含む細胞質タンパク質と交差反応する可能性があり、この反応性をMPM関連と誤認してはなりません。むしろ、いかなる強度の核反応性も中皮腫を表すものとみなされています。

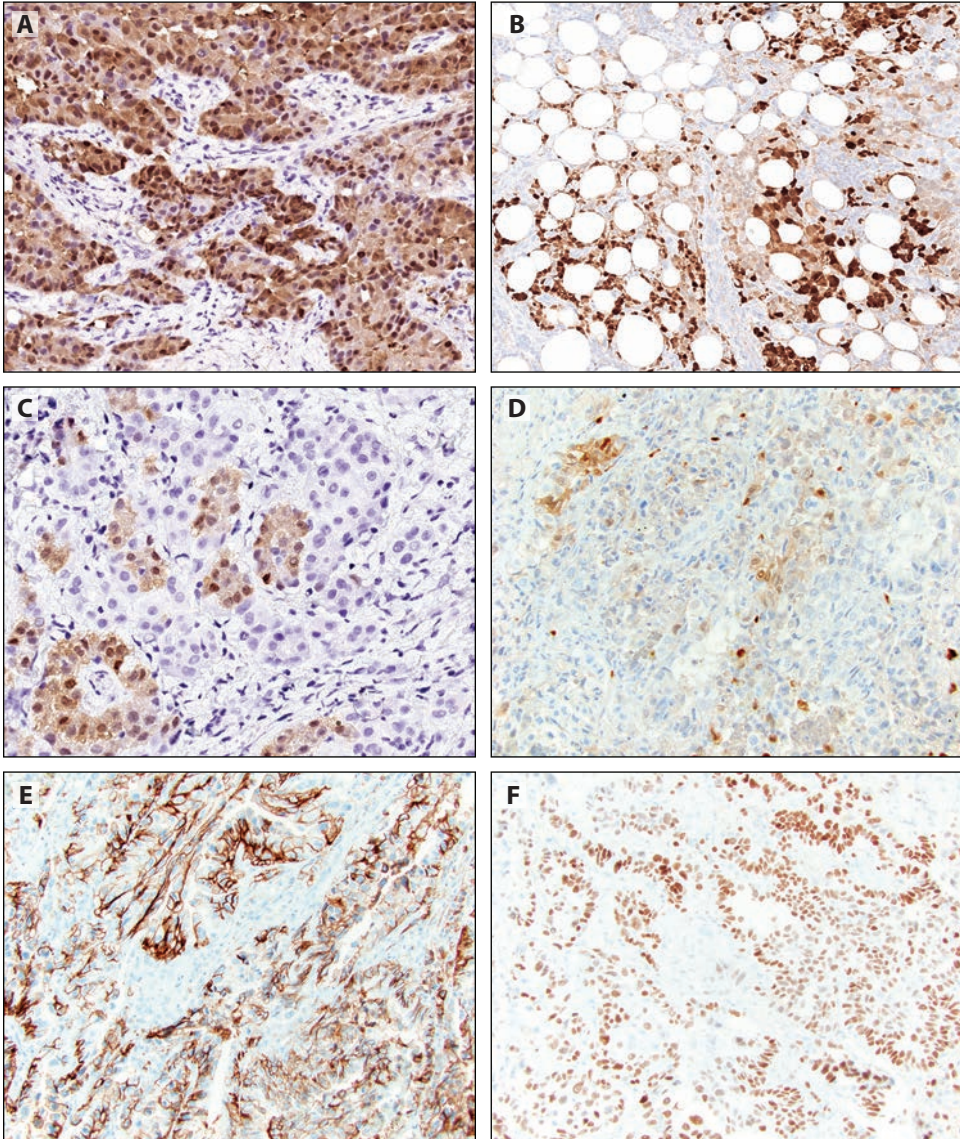


図17-1：(A) 単一細胞または小さなクラスターによる (B) 広範な脂肪組織浸潤を伴う、類上皮中皮腫におけるびまん性の細胞質および核のカルレチニンの発現。(C) 類上皮中皮腫の別の症例では、カルレチニンは弱く限局的にしか発現していません。(D) カルレチニンの限局的で弱い発現を伴う腺癌の例。ただし、「癌腫」マーカー (E) BerEP4、および (F) TTF1により、腺癌の診断が確定されます。



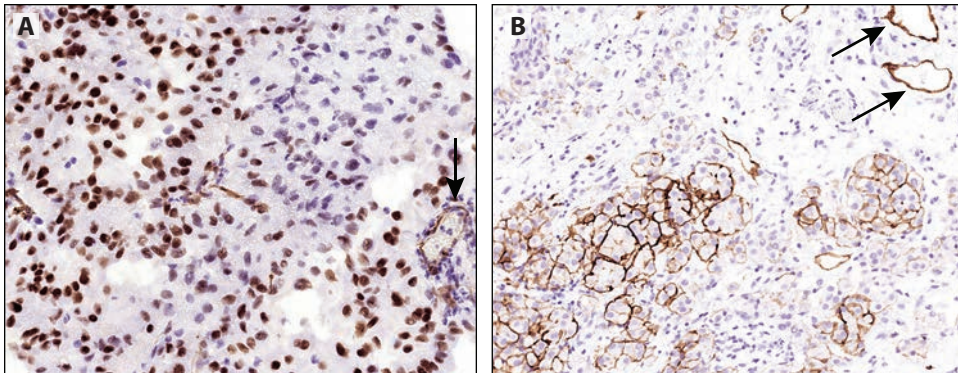


図17-2：(A) 類上皮中皮腫における様々な強度のWT1による核の発現は、びまん性または限局的である場合があります。注目すべきことに、小血管の内皮細胞もWT1を発現します(矢印)。(B) D2-40は、類上皮中皮腫のほとんどの腫瘍性細胞で強い膜染色を示すことが多い。WT1と同様に、このマーカーは主にリンパ管の内皮細胞を染色します(矢印)。

(2018年Husain氏他) (図17-2)。WT1は肺腺癌では陰性ですが、一部の癌腫、特に卵巣癌では陽性となることがあります。

D2-40 (ポドプラニン) は、類上皮MPMの90~100%で、94%の感度と68%の特異性を持つ膜状の、しばしばびまん性の染色を表します(2020年Le Stang氏他、2017年He氏他) (図17-2)。また、リンパ管を染色します。肺腺癌の約15%が限局的に陽性となる可能性があります。

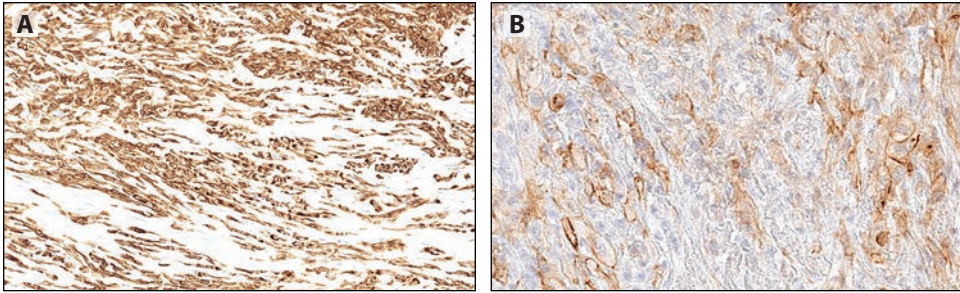
### まとめの回答

カルレチニンとWT1は、類上皮MPMの診断に最適な陽性中皮マーカーです。クローデイン4、MOC31、モノクローナルCEA、B72.3、Ber-EP4を部位特異的マーカーと組み合わせると、癌腫と類上皮MPMとを区別するのに最適となります。

### 肉腫様MPMと肉腫様癌を区別するための最良のマーカーとは？

胸膜の肉腫様腫瘍の精密検査には、サイトケラチンや中皮腫マーカーに加えて、デスミン、S100タンパク質、マイोजェニン、シグナル伝達性転写因子6 (STAT6: signal transducer and activator of transcription 6)、CD34、ERG、CD31、FLI1などの間葉系マーカーのパネル、さらに黒色腫マーカー(HMB45、メラニンA)を使用する必要があります(2016年Galateau-Salle氏他)。クローデイン4、MOC31、Ber-EP4、CEAなどの癌腫マーカーは肉腫様腫瘍の鑑別診断にはあまり役立たず、特に組織が限られている場合はパネルに含める必要はありません(2018年Husain氏他)。肉腫様癌との鑑別診断では、TTF1やp40などの臓器部位や分化に特化したマーカーが役立つ場合があります。

肉腫様中皮腫は、ほとんどの場合、AE1/AE3、CAM5.2、パンサイトケラチン抗体OSCARおよびKL1などのサイトケラチンで少なくとも限局的に染色されます(図17-3A)。肉腫様MPMの最大7%でパンサイトケラチンは陰性である可能性があります(2010年Klebe氏他)。サイトケラチンの発現が陽性であるだけでは、肉腫様癌や一部の肉腫とは区別されませんが、精密検査の最初のステップとして考慮すべきであり、他の中皮および非中皮マーカーと一緒に解釈する必要があります。(2017年Marchevsky氏他)。場合によっては、サイトケラチンの発現を示すために、複数のブロックが利用可能な場合はそのブロックを染色する必要があります。



**図17-3**：(A) 広域スペクトラムサイトケラチン(例：クローンAE1/AE3)は腫瘍性紡錘細胞で強く発現しています。(B) D2-40は、この肉腫様中皮腫で限局的に発現しており、紡錘体または卵形の腫瘍細胞の典型的な膜染色が見られます。

D2-40 (ポドプラニン)は、腫瘍性中皮腫細胞膜を強調する感度が高いため、肉腫様MPM診断をサポートするための信頼性の高い代替手段です(2018年Churg氏他、2019年Chapel氏他、2020年Nicholson氏他)([図17-3B](#))。この中皮マーカーは肉腫様MPMの診断を確立するために最も有用であり、症例の約74%で陽性となっています(Marchevsky氏他, 2017年)。肉腫様MPMでは、特に線維形成性間質に散在する稀な紡錘細胞の場合、リンパ管との区別が難しい場合があります。内皮反応は、肉腫様MPMの症例の場合、腫瘍に関連するものと誤解してはなりません。カルレチニン、WT1、さらにはサイトケラチンの反応性を欠く非常に稀な症例では、D2-40が唯一の陽性の中皮腫マーカー(限局的な発現ではあるが)となる可能性があるため、この区別は非常に重要となります。

カルレチニンは肉腫様MPMの約54%でより不規則に発現しており、限局的であったり、存在しない場合もあります([図17-4A](#)および**B**)。核染色は中皮腫の場合により特異的であると考えられています。WT1は肉腫様MPMの約45%で発現しています(2017年Marchevsky氏他)。核反応性は、場合によっては弱いこともありますが、特異的であると認められています(2016年Galateau-Salle氏他)([図17-4C](#))

最近、GATA3 IHCが、肉腫様および線維形成性MPMを肉腫様肺癌と区別するためのマーカーとして提案されました(2017年Berg氏およびChurg氏)。中皮腫では強くびまん性のGATA3の発現が観察されますが、肉腫様癌は大部分が陰性であるか、弱く斑状の染色を表します。

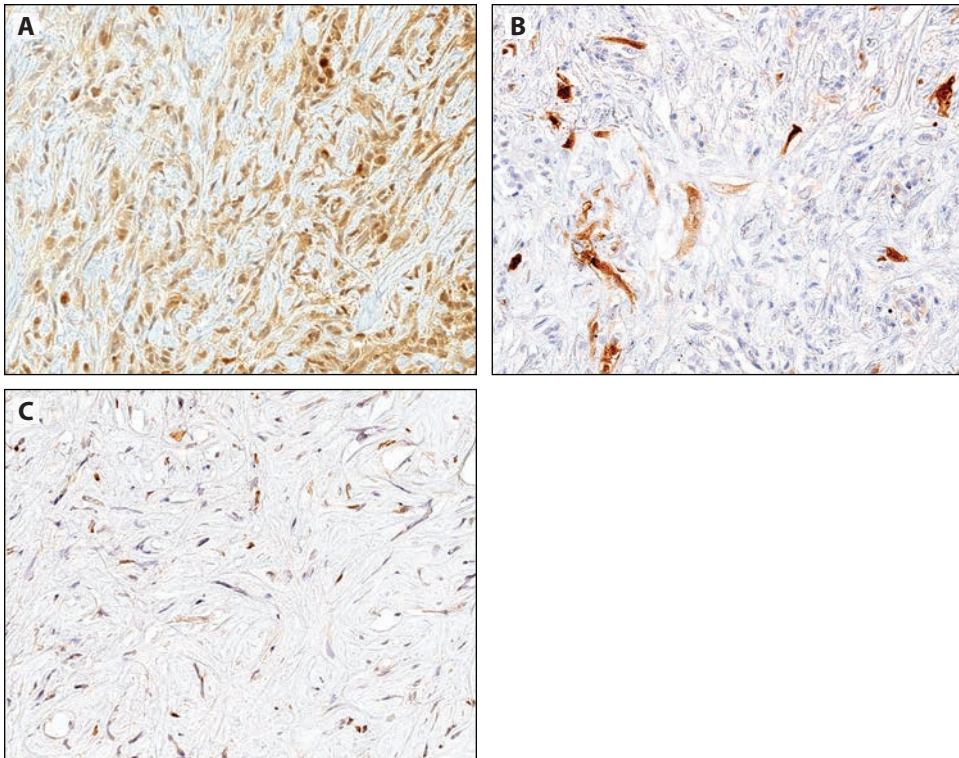
### まとめの回答

肉腫様MPMは、サイトケラチンや中皮マーカー(D2-40やカルレチニンが多い)が陽性で診断できますが、癌腫マーカーは陰性です。サイトケラチンが陰性の場合、鑑別診断には肉腫を含める必要があり、特定の遺伝子融合／再配列の精密検査の実施を検討する必要があります。

### MPMの診断におけるサイトケラチンの役割とは？

サイトケラチンは通常、MPMのすべての組織学的サブタイプで発現しており、類上皮MPMに対する感度は100%となっています(2020年Le Stang氏他)。このことは肉腫を除外するのに役立ちますが、以下の2つの注意点があります。1つ目は、まれな肉腫がサイトケラチン(血管肉腫および滑液肉腫を含む)を発現する可能性があること、2つ目は、サイトケラチンの発現を欠くまれな肉腫様MPMの症例があることです(7%)(2010年Klebe氏他)。





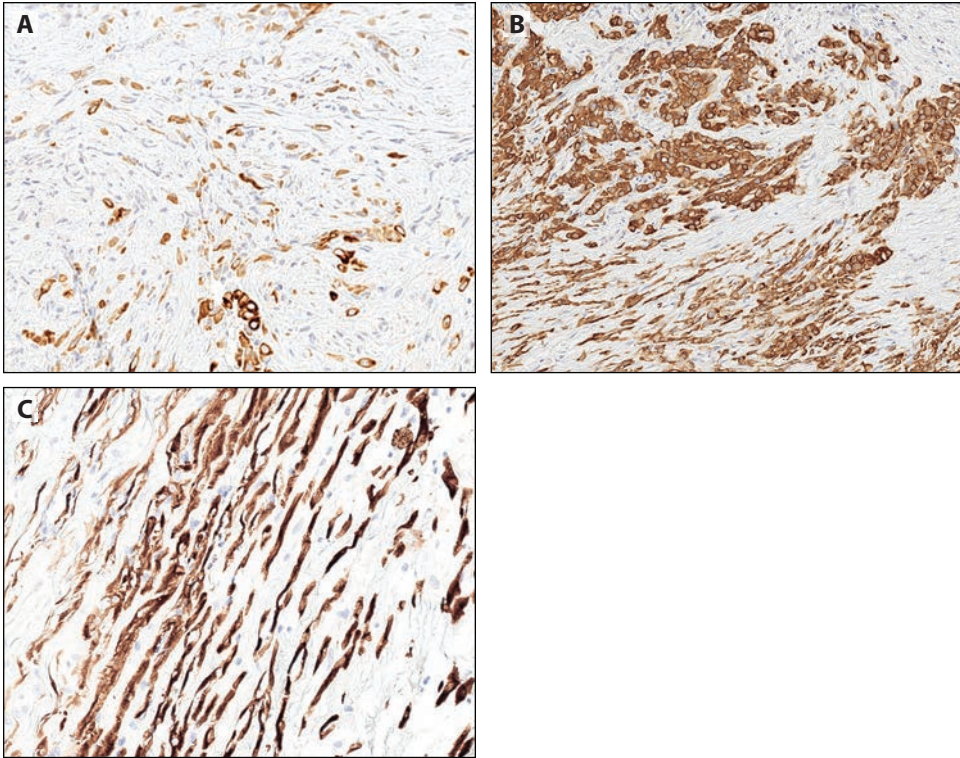
**図17-4**：カルレチニンは、(A) びまん性および (B) 限局的反応性を示す肉腫様中皮腫のこれら2つの例において様々な形で発現しています。場合によっては、稀な単一細胞のみこのマーカーを発現します。場合によっては、染色が弱く (A)、非特異的またはアーチファクトとして解釈されることがありますが、関連する核陽性は、染色が本物であるという有用なピットフォールである場合があります。(C) 紡錘体腫瘍性核におけるWT1による発現の強度が強いものと弱いものがある肉腫様中皮腫の例。

サイトケラチンのサブタイプのうち、CK5/6は、ほとんどの腺癌と比較してMPMを特異的に染色することが報告されています(図17-5A)。ただし、この同じサイトケラチンのサブタイプはさまざまな解剖学的部位の扁平細胞癌によっても発現されるため、扁平細胞癌の転移との区別ではCK5/6の使用は限定的な価値しか持たないことに留意することが不可欠です。

サイトケラチンは、慢性胸膜炎の反応性間質および純粋な類上皮MPMを取り巻く間質(図17-5BおよびC)でも発現しますが、線維芽細胞間質の成熟に伴って表面から離れるにつれて減少する傾向があります。したがって、このマーカーは、絶対発現の観点から中皮腫を反応性(非定型)中皮増殖と区別するには効果がなく、間質でのサイトケラチンの発現自体も二相性MPMの診断を裏付けるものではありません(2016年 Galateau-Salle氏他)。ただし、通常のヘマトキシリン・エオジン(H&E: hematoxylin and eosin)染色では容易に見られない胸壁の脂肪組織への腫瘍細胞の浸潤の特定に役立ちます。

サイトケラチン染色は、特に胸膜の深部において線維性間質内に不規則な染色パターンを示すことから肉腫型中皮腫の特定に役立つ場合がある一方、反応性胸膜炎の紡錘細胞の染色は表面から離れるにつれて減少する傾向があります(図17-6)。したがって、切片を作成するためにサンプルをカセットに入れる際、サンプルの向きを合わせることが重要となります。





**図17-5：**(A) 高分子サイトケラチン(例：CK5/6)は、類上皮中皮腫細胞クラスターで強く発現しており、一部の非腫瘍性間質細胞における弱く限局的な染色と関連している場合があります。(BおよびC) 広域スペクトラムサイトケラチン(例：クローンAE1/AE3)および特定のクローン(例：CK5/6)は、腫瘍性および良性の反応性中皮細胞の両方を染色するため、このマーカーは、顕著な反応性異型性を有する良性の病変と中皮腫との鑑別診断にはあまり有効ではありません。この二相性中皮腫の類上皮および紡錘体腫瘍細胞だけでなく(B)、硬化性組織化胸膜炎の反応性間質細胞(C)もサイトケラチンを強く発現します。

## まとめの回答

サイトケラチン染色は、全層胸膜細胞性、帯状分布の欠如、および胸壁脂肪組織への中皮細胞の浸潤の存在を強調するのに役立ちます。

## どのような免疫組織化学的マーカーを用いれば、中皮細胞増殖の良性と悪性を区別することができるか？

良性の非定型中皮腫と中皮腫の鑑別診断にBRCA1関連タンパク質1 (BAP1: BRCA1-associated protein 1)を用いることが多数の研究により支持されています。BAP1は、オンコサプレッサー機能を持ち、細胞の増殖と成長の抑制に関係している脱ユビキチン化タンパク質です。BAP1はすべての正常な細胞の核で発現します。染色体3p21にあるBAP1遺伝子の体細胞変化は、腫瘍細胞におけるタンパク質の発現の喪失を引き起こし、この現象は類上皮の約65%および肉腫様MPMの20%で発生します(2017年Hida氏他、2018年Churg氏他、2018年Galateau-Salle氏他)。このマーカーを他の形態学および免疫表現型のデータと切り離して使用しないことが最近推奨されています(2020年Nicholson氏他)。

稀な形態のBAP1生殖細胞系列の変化を除いて、BAP1免疫反応は、脂肪、血管、結合組織のすべての非腫瘍性細胞で維持されます(図17-7)。

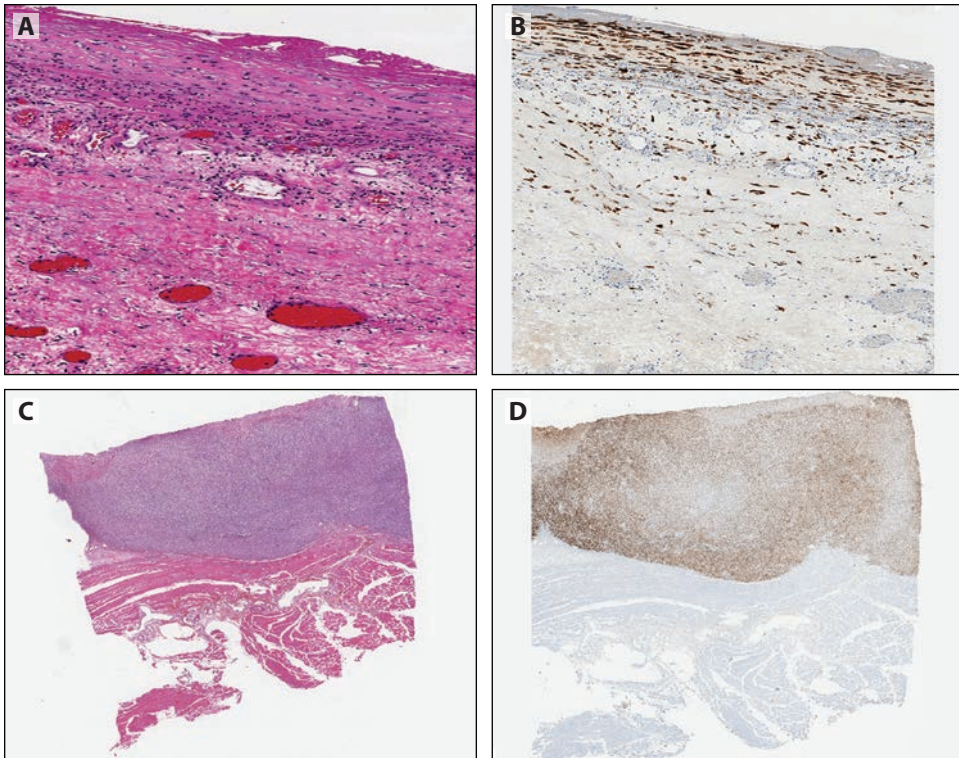


図17-6：(AおよびB) 反応性線維性胸膜炎におけるサイトケラチンの発現は、帯状分布（表面では細胞過多および胸壁に向かって深部では細胞の減少）および良性の中皮細胞の水平分布を強調し、(CおよびD) 悪性の肉腫性増殖では、胸膜全体の厚さを占める中皮細胞の無秩序な増殖パターンを示します。

BAP1 IHCは、反応性の非定型中皮増殖とMPMを区別するのに役立ちます。BAP1染色の消失は、細胞診の液状検体中の類上皮MPMの診断を確立するのにも役立ちます(図17-8)。

また、BAP1 IHCは、二相性MPMの診断を確立するのにも役立ちます。間質細胞ではなく、類上皮腫瘍細胞でのBAP1染色の消失は、間質反応を表す非定型紡錘細胞が存在する場合でも、二相性MPMの診断と相反します(図17-9) (2016年Righi氏他、2018年Galateau-Salle氏他、2017年Wu氏他)。ただし、二相性中皮腫の症例は類上皮と間質の成分の間で不一致となる結果を示す場合があるので、解釈は慎重に行う必要があります(2016年Bueno氏他)。そのような場合、メチルチオアデノシンホスホリラーゼ (MTAP: methylthioadenosine phosphorylase) IHCまたはCDKN2Aホモ接合欠失のための蛍光in situハイブリダイゼーション (FISH: fluorescence in situ hybridization) など、他の補助的な検査が役立つことがあります。

MTAP IHCは、CDKN2A/p16遺伝子変化の代替マーカーとして最近提案されています。染色体9p21にあるCDKN2A遺伝子のホモ接合体欠失は、悪性の中皮増殖における定評のあるマーカーであり、類上皮MPMの約70%

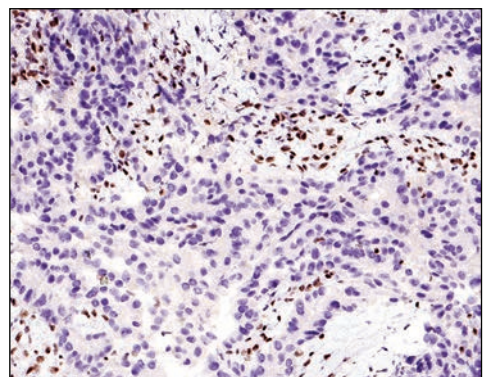
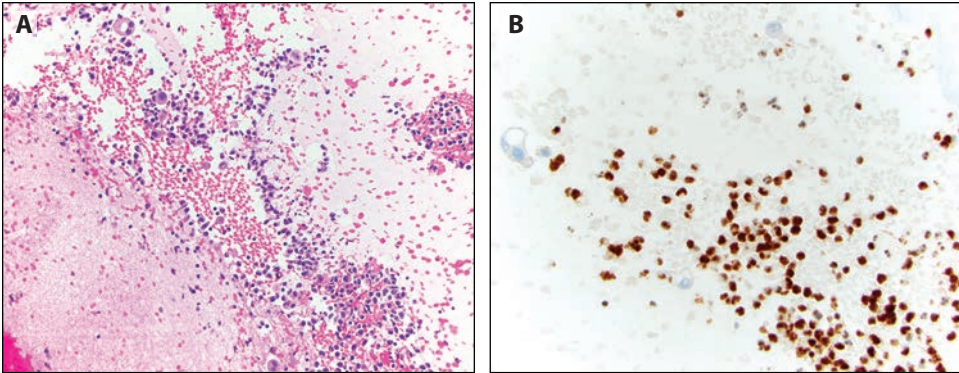
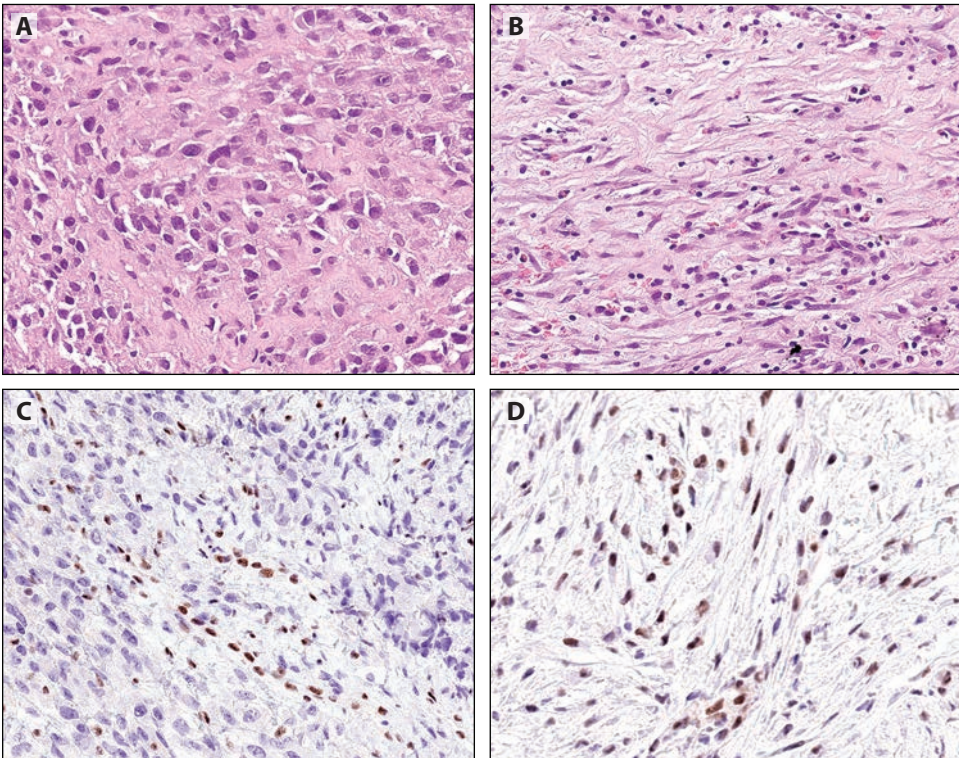


図17-7：腫瘍性細胞では核染色が見られず、非腫瘍性間質細胞では無傷で発現していることから分かるように、BAP1はこの類上皮中皮腫内で失われています。





**図17-8**：非定型中皮細胞とリンパ球のクラスターが散在している胸水検体。(A) 形態学的には、この胸水は非定型であると解釈されました。(B) ただし、中皮細胞の同じクラスター内でのBAP1の発現が喪失しているため、胸水検体が実際に悪性であることが確認されています。



**図17-9**：(A) 著しく変則的な間質 (B) に関連した類上皮細胞成分を持つ疑わしい二相性中皮腫の症例。(C) BAP1は、類上皮成分内でのみ失われます (D) 非定型間質細胞においてBAP1が無傷で発現することは、腫瘍性ではなく反応性の性質を示唆しているため、類上皮中皮腫(非定型間質反応を伴う)の最終診断に役立ちます。

、肉腫様MPMのほぼ100%で失われます(2003年Illei氏他、2008年Chiosea氏他、2018年Husain氏他)。MTAPはプリン代謝に関与する酵素であり、その遺伝子は9p21.3遺伝子座のCDKN2Aに非常に近くに位置しており、MPMの最大100%においてCDKN2Aと並行して欠失することが報告されています。



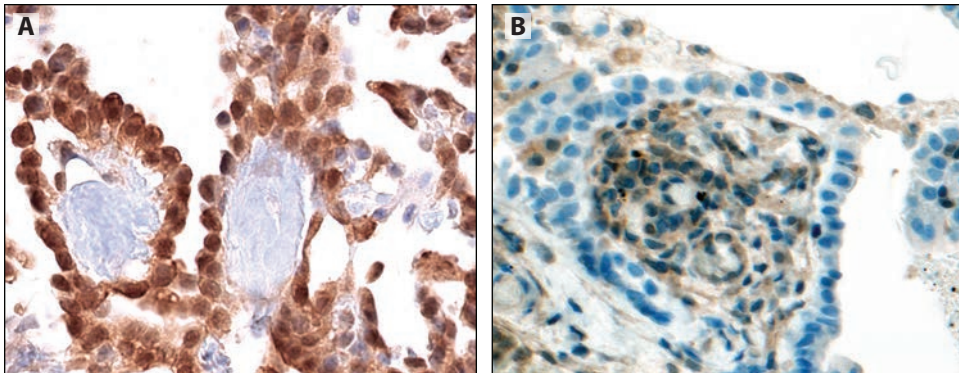


図17-10 : (A) 野生型CDKN2A遺伝子を持つ乳頭状中皮腫は、すべての腫瘍細胞および間質細胞でMTAPをびまん的に発現させます。(B) MTAP喪失を伴う乳頭状中皮腫の例。非腫瘍性間質細胞が規則的にタンパク質を発現していますが、乳頭状の茎を覆う腫瘍性細胞は陰性となっています。

正常なヒト細胞および野生型の類上皮MPM症例の30%において、MTAPは細胞質で発現し、正常細胞および腫瘍細胞の核でも発現します(図17-10A)。

MPM細胞の遺伝子欠失は、核と細胞質の両方における免疫反応性の喪失に関連しており(図17-10B)、中皮腫瘍細胞(陰性)と間質細胞(腫瘍性ではなく反応性である場合は核の発現を維持する)を区別できます。存在する場合、MTAPの喪失はすべての腫瘍細胞で観察され、一部の細胞で部分的な喪失が見られたのは症例の10%のみにとどまりました(2018年Berg氏他、2020年Chapel氏他)。

MTAPの喪失は、反応性中皮増殖の最大23%においても報告されたが(2012年Zimling氏他)、この研究結果は、その反応性が炎症細胞(内部制御)の反応性と同等以上の強度であれば陽性であると解釈した場合、他の著者(2017年Hida氏他)によっては確認されませんでした。

## まとめの回答

BAP1 IHCおよびMTAP (CDKN2Aホモ接合性欠失の代用として)は、外科的および体液検体における良性と悪性の中皮増殖を区別するのに役立ちます。

## 結論

多くの症例が薬法医学的な意味合いを持つため、悪性中皮腫の診断を確認するためにはIHCが必要となります。類上皮中皮腫に関しては、形態学的、放射線学的、臨床的に典型的な症例の場合、診断に2つの中皮腫マーカーと2つの癌腫マーカーを使用することを推奨します。結果が一致しない場合は、追加のマーカーを使用する必要があります。肉腫様中皮腫に関しては、サイトケラチン染色を実施し、その際には間葉および中皮マーカーの豊富な使用経験を活かし、形態学的特徴を反映している可能性が高い抗体を選択する必要があります。多くの場合、特異度と感度は類上皮腫瘍よりもはるかに低いため、組織病理学的結論は確率のバランスとなり、学際的なデータが必要です。BAP1およびMTAP (CDKN2A/p16ホモ接合性欠失の代用として) IHCは、悪性中皮腫の増殖から良性中皮腫の増殖を分離し、滲出液および限られた組織サンプルにおける悪性中皮腫の診断を確立するのに役立ちます。

## 参考文献

- Berg KB, Churg A. GATA3 immunohistochemistry for distinguishing sarcomatoid and desmoplastic mesothelioma from sarcomatoid carcinoma of the lung. *Am J Surg Pathol*. 2017;41(9):1221-1225.
- Berg KB, Dacic S, Miller C, et al. Utility of methylthioadenosine phosphorylase compared with BAP1 immunohistochemistry, and CDKN2A and NF2 fluorescence in situ hybridization in separating reactive mesothelial proliferations from epithelioid malignant mesotheliomas. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(12):1549-1553.
- Bueno R, Stawiski EW, Goldstein LD, et al. Comprehensive genomic analysis of malignant pleural mesothelioma identifies recurrent mutations, gene fusions and splicing alterations. *Nat Genet*. 2016;48(4):407-416.
- Chapel DB, Churg A, Santoni-Rugiu E, et al. Molecular pathways and diagnosis in malignant mesothelioma: a review of the 14th international conference of the international mesothelioma interest group. *Lung Cancer*. 2019;127:69-75.
- Chapel DB, Schulte JJ, Berg K, et al. MTAP immunohistochemistry is an accurate and reproducible surrogate for CDKN2A fluorescence in situ hybridization in diagnosis of malignant pleural mesothelioma. *Mod Pathol*. 2020;33(2):245-254.
- Chiosea S, Krasinkskas A, Cagle PT, et al. Diagnostic importance of 9p21 homozygous deletion in malignant mesotheliomas. *Mod Pathol*. 2008;21(6):742-747.
- Churg A, Nabeshima K, Ail G, et al. Highlights of the 14th international mesothelioma interest group meeting: pathologic separation of benign from malignant mesothelial proliferations and histologic/molecular analysis of malignant mesothelioma subtypes. *Lung Cancer*. 2018;124:95-101.
- Galateau-Salle F, Churg A, Roggli V, et al. The 2015 World Health Organization classification of tumors of the pleura: advances since the 2004 classification. *J Thorac Oncol*. 2016;11(2):142-154.
- Galateau-Salle F, Le Stang N, Nicholson AG, et al. New insights on diagnostic reproducibility of biphasic mesotheliomas: a multi-institutional evaluation by the International Mesothelioma Panel from the MESOPATH Reference Center. *J Thorac Oncol*. 2018;13(8):1189-1203.
- He C, Wang B, Wan C, et al. Diagnostic value of D2-40 immunostaining for malignant mesothelioma: a meta-analysis. *Oncotarget*. 2017;8(38):64407-64416.
- Hida T, Hamasaki M, Matsumoto S, et al. Immunohistochemical detection of MTAP and BAP1 protein loss for mesothelioma diagnosis: comparison with 9p21 FISH and BAP1 immunohistochemistry. *Lung Cancer*. 2017;104:98-105.
- Husain AN, Colby TV, Ordonez NG, et al. Guidelines for pathologic diagnosis of malignant mesothelioma 2017 update of the consensus statement from the international mesothelioma interest group. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(1):89-108.
- Illei PD, Rusch VS, Zakowski MF, et al. Homozygous deletion of CDKN2A and codeletion of the methylthioadenosine phosphorylase gene in the majority of pleura mesotheliomas. *Clin Cancer Res*. 2003;9(6):2108-2013.
- Klebe S, Brownlee NA, Mahar A, et al. Sarcomatoid mesothelioma: a clinical-pathologic correlation of 326. *Mod Pathol*. 2010;23(3):470-479.
- Le Stang N, Burke L, Blaizot G, et al. Differential diagnosis of epithelioid malignant mesothelioma with lung and breast pleural metastasis: a systematic review compared with a standardized panel of antibodies—a new proposal that may influence pathologic practice. *Arch Pathol Lab Med*. 2020;144(4):446-456.
- Marchevsky AM, LeStang N, Hiroshima K, et al. The differential diagnosis between pleural sarcomatoid mesothelioma and spindle cell/pleomorphic (sarcomatoid) carcinomas of the lung: evidence-based guidelines from the International Mesothelioma Panel and the MESOPATH National Reference Center. *Hum Pathol*. 2017;67:160-168.
- Nicholson AG, Sauter JL, Nowak AK, et al. EURACAN/IASLC proposals for updating the histologic classification of pleural mesothelioma: towards a more multidisciplinary approach. *J Thorac Oncol*. 2020;15(1):29-49.
- Righi L, Duregon E, Vatrano S, et al. BRCA1-associated protein 1 (BAP1) immunohistochemical expression as a diagnostic tool in malignant pleural mesothelioma classification: a large retrospective study. *J Thorac Oncol*. 2016;11(11):2006-2017.
- Wu D, Hiroshima K, Yusa T, et al. Usefulness of p16/CDKN2A fluorescence in situ hybridization and BAP1 immunohistochemistry for the diagnosis of biphasic mesothelioma. *Ann Diagn Pathol*. 2017;26:31-37.
- Zimling ZG, Jorgensen A, Santoni-Rugiu E. The diagnostic value of immunohistochemically detected methylthioadenosine phosphorylase deficiency in malignant pleural mesotheliomas. *Histopathology*. 2012;60(6B):E96-105.

執筆者：Andre L. Moreira、William D. Travis

## はじめに

胸腺腫瘍は稀な症例であり、一般的な集団における有病率は約1%と推定されています（2015年Araki氏他、2012年Siesling氏他）。これらの病変を持つ患者の管理には、臨床、検査、さらには鑑別診断、疾患の程度、そして最も重要である組織病理学的分類を決定するための画像診断機能が取り入れられています。胸腺に関係するものを含む前縦隔病変は、病因的に異質であり、これにより部位の複雑性が増大しています。この章では、最も一般的に遭遇する前縦隔腫瘍の鑑別診断における免疫組織化学的染色の使用について詳しく説明し、胸腺上皮病変（胸腺腫、胸腺癌）および胚細胞性腫瘍の鑑別診断に焦点を当てます。

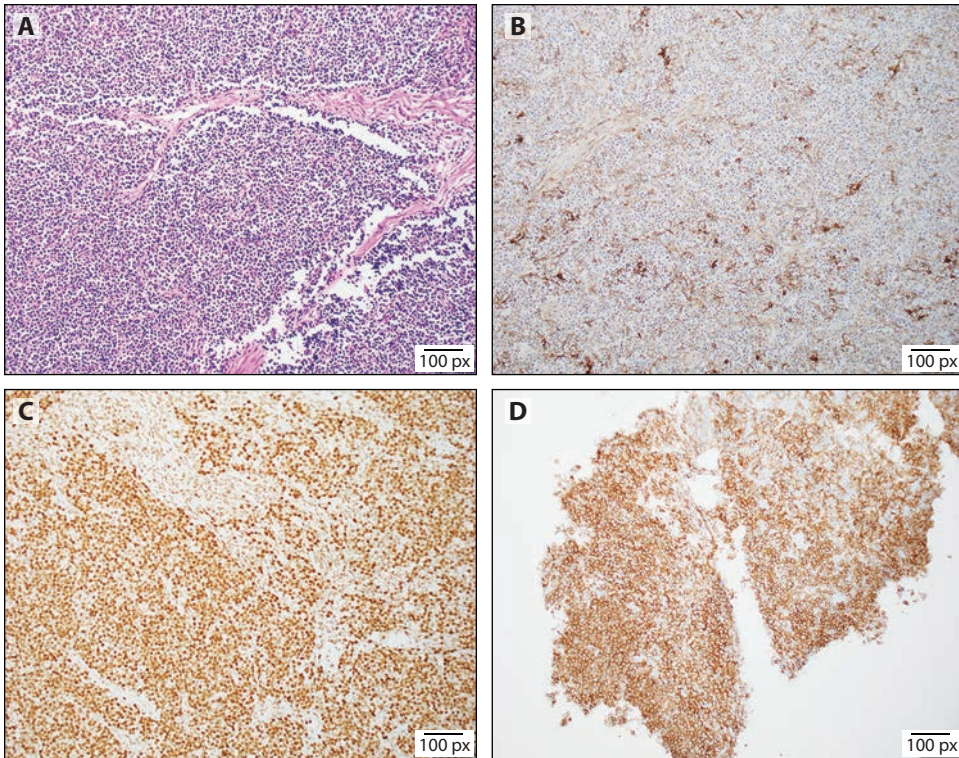
## 胸腺腫の診断に使用する最適なマーカーとは？

組織学的な分類が異なるにもかかわらず、すべての胸腺腫は免疫組織化学的に同じような反応パターンを示します。胸腺腫は、胸腺上皮細胞（ケラチン陽性）および胸腺未成熟リンパ球（末端デオキシヌクレオチド転移酵素 [TdT: terminal deoxynucleotidyl transferase]、CD1a、CD99の陽性細胞）で構成されています（2014年Marx氏他）（[図18-1](#)）。この組み合わせは、適切な形態学的設定のもとでの胸腺腫の診断によるものです。ケラチン7および20への染色は、胸腺腫が両方のマーカーに対して陰性となる場合があるので推奨されません（Chu氏他、2000年；Pomplun氏他、2002年）。リンパ腫は縦隔に作用し、胸腺腫の鑑別診断において世界保健機関（WHO: World Health Organization）のB1型およびB2型に区別される場合があります。ピットフォールは急性リンパ芽球性リンパ腫であり、これは若年成人によく見られ、腫瘍細胞はTdTに対して陽性です。ただし、すべてのリンパ腫はケラチン陽性細胞を持っていません。

## まとめの回答

ケラチンとTdTの組み合わせは、胸腺腫の診断に最適なパネルです。CD1aまたはCD99は、胸腺の未成熟リンパ球をマーキングするためにも使用できます。





**図18-1:** (A) WHOのB1型胸腺腫のH&E染色切片。線維帯、小葉成長パターン、豊富なリンパ球があります。上皮細胞はなかなか見られません。(B) ケラチン (AE1/AE3) の免疫組織化学染色は、メッシュ状に分布しており胸腺上皮細胞を強調します。(C) TdTへの免疫組織化学染色は、胸腺リンパ球を強調します。(D) CD1aへの免疫組織化学染色は、B2型胸腺腫のコア生検で胸腺リンパ球を強調します。

### 胸腺上皮細胞を強調するために、他にどのようなマーカーを使用できるか？

胸腺上皮細胞は、p40/p63 (2015年Su氏他、2014年Marx氏他) およびPAX8 (2012年Ordonez氏、2014年Asirvatham氏他) に対して陽性であり、このどちらも細胞核を染色します (図18-2)。後者は胸腺の神経内分泌腫瘍でも陽性となる可能性があります、胸腺腫瘍の反応はポリクローナルPAX8抗体を使用した場合にのみ見られます (2014年Toriyama氏他)。

#### まとめの回答

ポリクローナルPAX8とp40/p63をケラチンおよびTdTのパネルに加えることで、胸腺腫の特徴を明らかにすることができます。

### 免疫組織化学は胸腺腫の分類にどのように役立つか？

免疫組織化学的に染色することで、WHOのB型胸腺腫分類の再現性を高めることができます (図18-3)。B1胸腺腫ではケラチン陽性細胞がメッシュ状に分布していますが (図18-1B)、B2胸腺腫ではケラチン陽性細胞のクラスターが存在します。

#### まとめの回答

ケラチン染色は上皮細胞のパターンを明らかにすることができるため、B1胸腺腫とB2胸腺腫の分類に役立ちます。

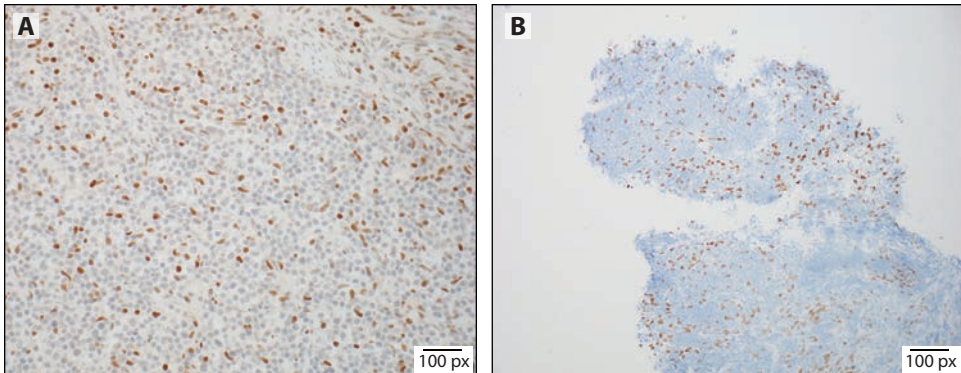


図18-2: (A) PAX8への免疫組織化学染色は、胸腺上皮細胞を強調します。(B) p40への免疫組織化学染色は、B2型胸腺腫のコア生検で胸腺上皮細胞を強調します。

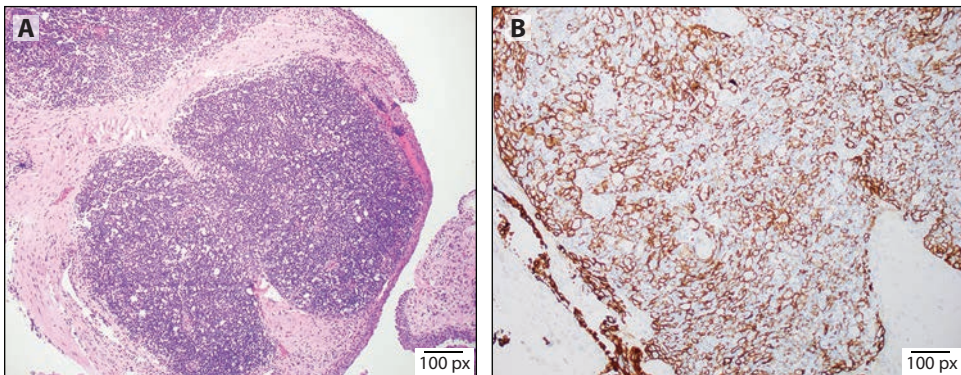
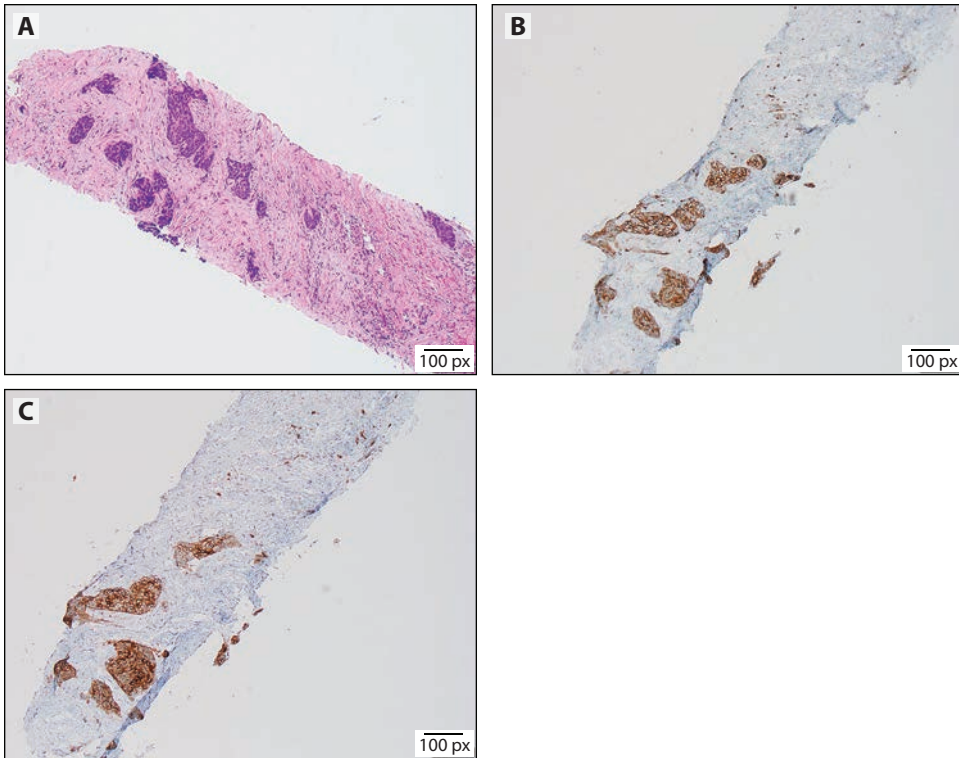


図18-3: (A) WHOのB2型胸腺腫のH&E染色切片。(B) ケラチン (AE1/AE3) の免疫組織化学染色により、上皮細胞のクラスターが表われるため、B2型胸腺腫の分類基準を満たしていることがわかります。図18-1Bは、B1型胸腺腫のケラチン陽性細胞のメッシュ状のネットワークを示したもので、これと比較してみてください。

### どのようにすれば胸腺腫と胸腺癌を区別できるか？

B3胸腺腫と胸腺癌の鑑別診断は、特に小生検では困難な場合があります。診断は腫瘍細胞の形態的特徴に依存しますが、免疫組織化学 (IHC: immunohistochemistry) が診断の助けとなります (図18-4)。WHOのB3型胸腺腫は、TdT陽性リンパ球に関連していますが、胸腺癌は胸腺リンパ球に関連していないため、TdTまたはCD1aによる免疫組織化学的染色はこれらの癌腫では陰性となります (2016年Weissferdt氏他、2014年Marx氏他)。ほとんどの胸腺がんは扁平上皮癌です。したがって、これらの腫瘍はp40/p63およびPAX8に対して陽性となります。これらのマーカーは特異的ではありませんが、陽性反応は胸腺に由来していることを示唆しています。さらに、肺癌においてはKITとCD5は二重陽性反応を示さないのと対照的に、胸腺癌の60~70%は上皮細胞においてKIT (CD117) とCD5に対して陽性を示します。これらの4つのマーカーは、胸腺癌をB3胸腺腫や肺扁平上皮癌と鑑別診断する際に、診断率を高めることができます (2014年Asirvatham氏他、2015年Su氏他、2015年Kriegsmann氏他)。





**図18-4：**(A) コア生検における胸腺癌のH&E染色切片で、線維性間質における上皮細胞のクラスターを表しています。(B) CD5および(C) CD117への免疫組織化学染色で、(B) 上皮細胞における陽性の膜および細胞質反応を表しています。上皮腫瘍細胞もp40に対して陽性であり、腫瘍に関連するTdT陽性リンパ球は存在しませんでした(画像は無し)。

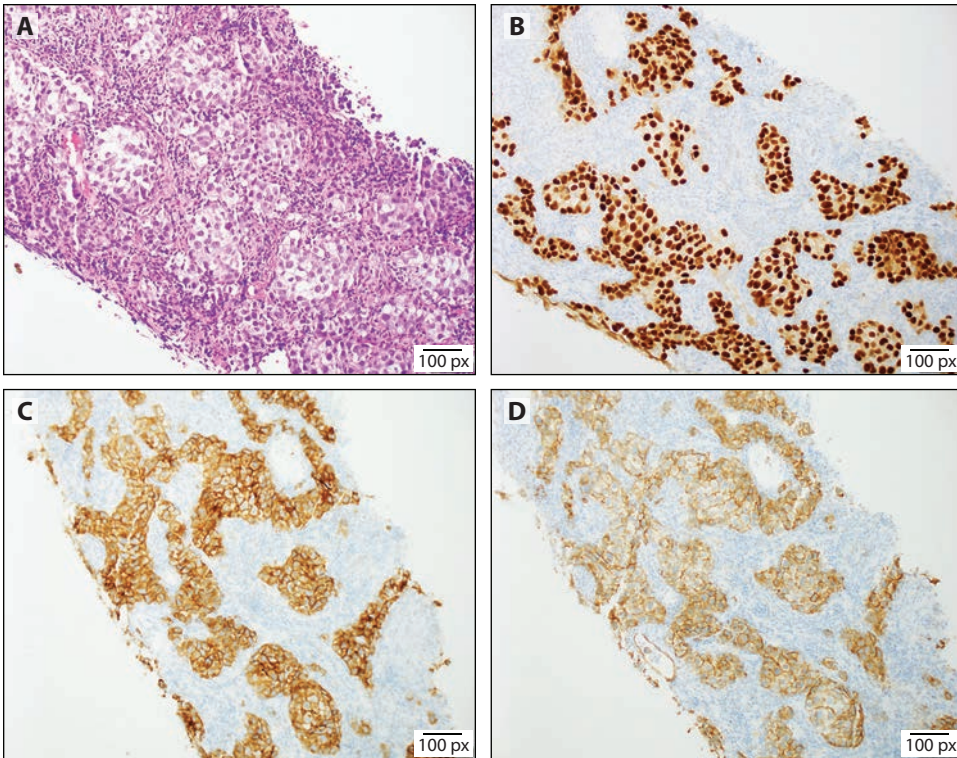
## まとめの回答

WHOのB3型胸腺腫と胸腺癌の鑑別診断は、小生検標本では困難な場合があります。TdT陽性リンパ球の存在は、胸腺腫の診断に有利となります。CD5やCD117の陽性発現は、胸腺癌の診断、および肺扁平上皮癌との鑑別診断に役立ちます。

## どの染色が胚細胞腫瘍の診断に役立つか？

縦隔胚細胞腫瘍の診断は、臨床、レントゲン写真、組織学的情報に大きく依存しています。胚細胞腫瘍は若年成人男性に多く見られ(Calaminus氏およびJoffe氏, 2016年)、精上皮腫、奇形腫、胎生期癌の血清マーカーがないにもかかわらず、卵黄嚢腫瘍および絨毛癌の $\alpha$ -フェトプロテイン(AFP:  $\alpha$ -fetoprotein)や $\beta$ -ヒト絨毛性ゴナドトロピン( $\beta$ -HCG:  $\beta$ -human chorionic gonadotropin)などの血清マーカーの増加と関連しています(2011年Salem氏およびGilligan氏)。胚細胞性腫瘍の構成要素は、それぞれの腫瘍が特異的な免疫反応パターンを持っているため、組織学とIHCによって決定することができます。ただし、奇形腫はこの腫瘍に特異的なマーカーが記載されていないため、例外となります。他の腫瘍と区別するために、sal様タンパク質4(SALL4: sal-like protein 4)は、奇形腫を含む胚細胞腫瘍全体で最も広く発現します(図18-5)。急性リンパ芽球性B細胞白血病や急性骨髄性白血病でも陽性のものがありますが、SALL4の発現は縦隔型胚細胞腫瘍の診断を示唆しています。臨床的には、精上皮腫と非精上皮腫性胚細胞腫瘍の区別が重要であり、この区別のために、OCT3/4、KIT(CD117)、CD30、グリピカン3が推奨されるマーカーとなっています(図18-5)(Ulbright氏他, 2014年)。一方、ほとん



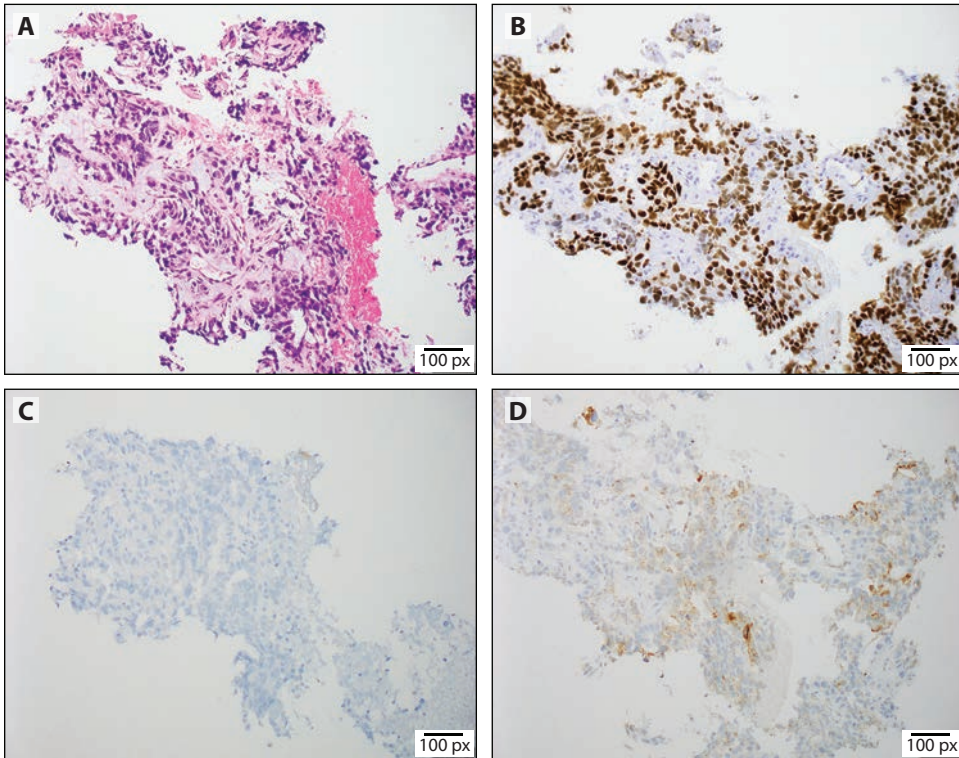


**図18-5：**(A) コア生検における縦隔精上皮腫のH&E染色スライド。リンパ球に囲まれた大きな腫瘍細胞の巣。(B) 精上皮腫は、SALL4 (核染色)、汎胚細胞腫瘍マーカー、OCT4 (画像無し)、(C) CD117、(D) D2-40に対して陽性です。

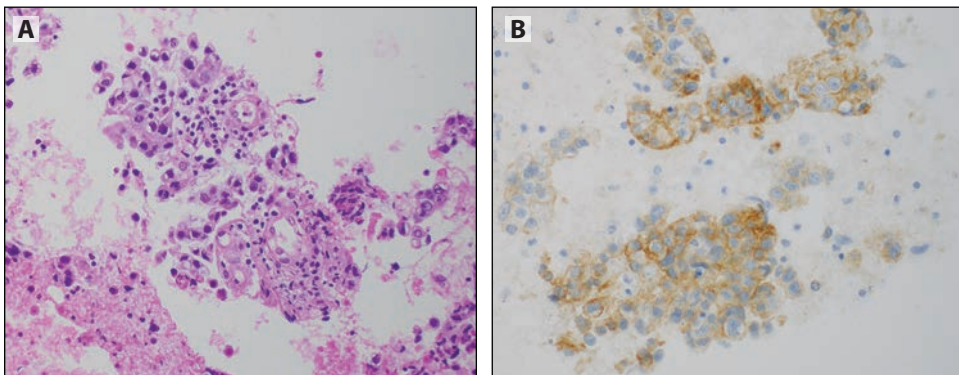
どの腫瘍は混合性胚細胞腫瘍であり、あらゆる腫瘍の組み合わせを含みます。OCT3/4は、精上皮腫および胚性癌では陽性ですが、卵黄嚢腫瘍(図18-6)および絨毛癌では陰性となります。CD117はほとんどすべての精上皮腫で発現しますが、胎児性癌では陰性であり、卵黄嚢腫瘍ではさまざまな発現を示します。CD30はほとんどの胎児性癌で陽性ですが(図18-7)、他の胚細胞腫瘍では陰性です。一方、グリピカン3は卵黄嚢腫瘍とほとんどの絨毛癌で見られますが、通常は胎児性癌と精上皮腫で陰性となります。ほとんどの卵黄嚢腫瘍はAFP陽性ですが、これは限局的である場合があります。絨毛癌もHCGを発現します(図18-8)(Ulbright氏他, 2014年)。精巣とは対照的に、縦隔胚細胞腫瘍はサイトケラチンに対して陽性である場合があるため(1998年Suster氏他、2015年Weissferdt氏他)、ケラチンが陽性であっても直ちに上皮性腫瘍であるとは言えません(図18-9)。

### まとめの回答

SALL4は、これらの腫瘍を調べるためにパネルに含める必要がある汎胚細胞腫瘍マーカーです(2013年Camparo氏およびComperat氏)。SALL4が陽性であれば、胚細胞腫瘍であることを意味するため、OCT3/4、KIT (CD117)、CD30、グリピカン3を精上皮腫と非精上皮腫性胚細胞腫瘍の分類子として用いることができます(2007年Cheng氏他、2019年Weissferdt氏他)。その他のマーカーは、組織学的検査の後に使用し、適宜追加する必要があります(2005年Ulbright氏、2015年Weissferdt氏他)。



**図18-6：**(A) 胚構造に似た組織学的パターンを形成する縦隔卵黄嚢腫瘍のH&E染色スライド。卵黄嚢腫瘍は、(B) SALL4に対して陽性であり、(C) OCT4に対して陰性です。卵黄嚢腫瘍は (D) グリビカン3に対しても陽性であり、しばしば斑状に分布します。腫瘍はAFPに対しても陽性です(画像無し)。



**図18-7：**セルブロックにおける胚性癌腫のH&E染色スライド。(A) 腫瘍細胞は卵黄嚢腫瘍よりも大きく、多形性です。(B) 胎児性癌はCD30に対して陽性です。腫瘍細胞はSALL4およびOCT4に対しても陽性です(画像無し)。

## 結論

胸腺腫瘍はまれなものであり、さまざまな組織学的サブタイプがあります。IHCは、特に小生検標本において、胸腺腫瘍の鑑別診断の大きな助けとなります。この章で説明した胸腺上皮腫瘍および胚細胞腫瘍に加えて、リンパ腫、神経内分泌腫瘍、およびその他の稀な腫瘍も胸腺内で発生する可能性があります。これらの腫瘍の鑑別診断については、別の箇所で説明しています(2015年Marx氏他)。



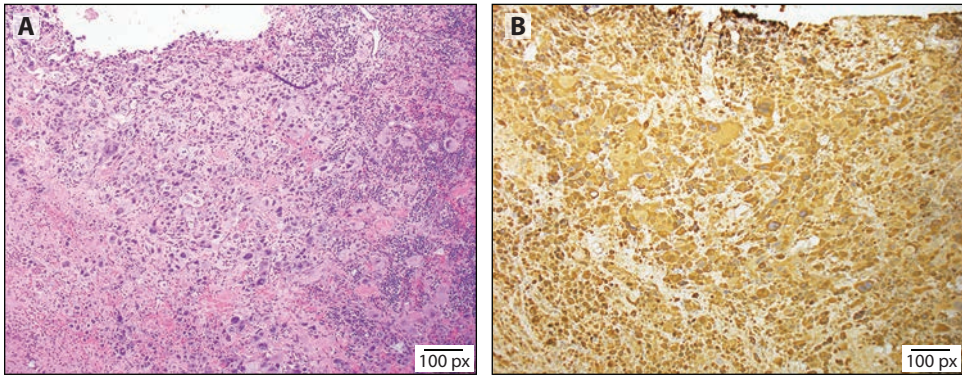


図18-8: 絨毛癌のH&E染色スライド。(A) 出血に関連することが多い大きな多形性の多核細胞。(B) 絨毛癌は、 $\beta$ -HCGに対して陽性であり、他のすべての胚細胞腫瘍マーカーに対しては陰性であることが多い。

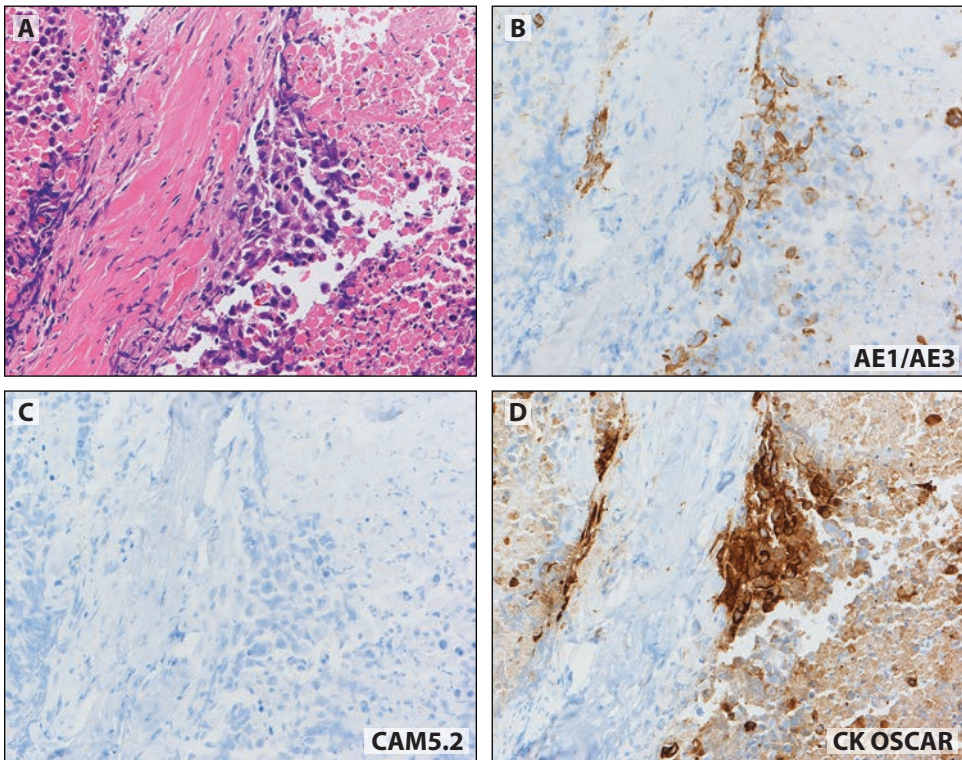


図18-9: 精上皮腫におけるサイトケラチン染色。精上皮腫はサイトケラチンに対して陽性である場合があるため、陽性であることが上皮腫瘍を直ちに示すわけではありません。

### 参考文献

Araki T, Nishino M, Gao W, et al. Anterior mediastinal masses in the Framingham Heart Study: prevalence and CT image characteristics. *Eur J Radiol Open.* 2015;2:26-31.

Asirvatham JR, Esposito MJ, Bhuiya TA. Role of PAX-8, CD5, and CD117 in distinguishing thymic carcinoma from poorly differentiated lung carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2014;22:372-376.

Calaminus G, Joffe J. Germ cell tumors in adolescents and young adults. *Prog Tumor Res.* 2016;43:115-127.

Camparo P, Comperat EM. SALL4 is a useful marker in the diagnostic work-up of germ cell tumors in extra-testicular locations. *Virchows Arch.* 2013;462:337-341.

Cheng L, Sung MT, Cossu-Rocca P, et al. OCT4: biological functions and clinical applications as a marker of germ cell neoplasia. *J Pathol.* 2007;211:1-9.



- Chu P, Wu E, Weiss LM. Cytokeratin 7 and cytokeratin 20 expression in epithelial neoplasms: a survey of 435 cases. *Mod Pathol*. 2000;13:962-972.
- Kriegsmann M, Muley T, Harms A, et al. Differential diagnostic value of CD5 and CD117 expression in thoracic tumors: a large scale study of 1465 non-small cell lung cancer cases. *Diagn Pathol*. 2015;10:210.
- Marx A, Chan JK, Coindre JM, et al. The 2015 World Health Organization classification of tumors of the thymus: continuity and changes. *J Thorac Oncol*. 2015;10(10):1383-1395.
- Marx A, Strobel P, Badve SS, et al. ITMIG consensus statement on the use of the WHO histological classification of thymoma and thymic carcinoma: refined definitions, histological criteria, and reporting. *J Thorac Oncol*. 2014;9(5):596-611.
- Ordóñez NG. Value of PAX 8 immunostaining in tumor diagnosis: a review and update. *Adv Anat Pathol*. 2012;19:140-151.
- Pomplun S, Wotherspoon AC, Shah G, et al. Immunohistochemical markers in the differentiation of thymic and pulmonary neoplasms. *Histopathology*. 2002;40:152-158.
- Salem M, Gilligan T. Serum tumor markers and their utilization in the management of germ-cell tumors in adult males. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2011;11:1-4.
- Siesling S, van der Zwan JM, Izarzugaza, I, et al. Rare thoracic cancers, including peritoneum mesothelioma. *Eur J Cancer*. 2012;48(7):949-960.
- Su XY, Wang WY, Li JN, et al. Immunohistochemical differentiation between type B3 thymomas and thymic squamous cell carcinomas. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015;8:5354-5362.
- Suster S, Moran CA, Dominguez-Malagon H et al. Germ cell tumors of the mediastinum and testis: a comparative immunohistochemical study of 120 cases. *Hum Pathol*. 1998;29(7):737-742.
- Toriyama A, Mori T, Sekine S, et al. Utility of PAX8 mouse monoclonal antibody in the diagnosis of thyroid, thymic, pleural and lung tumours: a comparison with polyclonal PAX8 antibody. *Histopathology*. 2014;65(4):465-472.
- Ulbright TM. Germ cell tumors of the gonads: a selective review emphasizing problems in differential diagnosis, newly appreciated, and controversial issues. *Mod Pathol*. 2005;18(suppl 2):S61-79.
- Ulbright TM, Tickoo SK, Berney DM, et al. Best practices recommendations in the application of immunohistochemistry in testicular tumors: a report from the International Society of Urological Pathology consensus conference. *Am J Surg Pathol*. 2014;38(8):e50-59.
- Weissferdt A, Kalhor N, Moran CA. Thymomas with extensive clear cell component: a clinicopathologic and immunohistochemical study of nine cases. *Am J Clin Pathol*. 2016;146:132-136.
- Weissferdt A, Kalhor N, Rodriguez Canales J, et al. Primary mediastinal yolk sac tumors: an immunohistochemical analysis of 14 cases. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2019;27:125-133.
- Weissferdt A, Rodriguez-Canales J, Liu H, et al. Primary mediastinal seminomas: a comprehensive immunohistochemical study with a focus on novel markers. *Hum Pathol*. 2015;46(3):376-383.

# 予測バイオマーカー検査における免疫組織化学の使用

# 19

執筆者: Keith M. Kerr, Ming Sound Tsao, Fred R. Hirsch, Ignacio I. Wistuba

## はじめに

本書で頻繁に述べているとおり、免疫組織化学 (IHC: immunohistochemistry) は組織切片中のタンパク質の検出に深く関わっています。反対に、腫瘍の分子標的薬への感受性を高める癌遺伝子変異は、わずかな例外を除き、通常はDNAおよびRNAレベルの遺伝子変異に関係しています。ただし、発癌活性を発揮するのは変性タンパク質であり、薬剤の標的も、変性核酸配列ではなく変性タンパク質です。

1990年代の初め、ヒト上皮成長因子受容体2型 (HER2: human epidermal growth factor receptor 2) IHCは乳癌検査になかなか導入されず、多くの癌専門医は概してIHCに慎重でした。非小細胞癌 (NSCC: non-small cell carcinoma) 向けの、IHCベースのバイオマーカーがいくつも登場しては消えていきましたが (チミジル酸シンターゼ、上皮成長因子受容体 (EGFR: epidermal growth factor receptor)、METなど)、そのうちのいくつかは復活する可能性もあります (以降のセクションを参照)。ただし近年になり、プログラム細胞死リガンド-1 (PD-L1: programmed death ligand-1) IHCによって、この技術はNSCCバイオマーカー検査の中核に位置付けられるようになりました。

## IHCはEGFR変異の検出に役立つか？

EGFRチロシンキナーゼ阻害薬 (TKI: tyrosine kinase inhibitor) 治療の患者を選別するためのバイオマーカーを探す過程で、EGFR野生型 (WT: wild-type) タンパク質に対するIHCアッセイを調査した結果、この薬剤による効果が見られた患者は、EGFRのTKドメインに広範囲な活性化変異および感受性変異を有する、より限定的な患者群であることが判明しました (2006年Clark氏他、2008年Eberhard氏他)。FLEX試験では、EGFR WT IHCは抗EGFRモノクローナル抗体であるセツキシマブの効果が期待できる患者の選別に有効でした (2014年Douillard氏) が、この抗体薬には規制当局の認可が下りなかったため、EGFR WT IHC検査が一般診療に使用されることはありませんでした。このバイオマーカーは、もう一つの抗EGFRモノクローナル抗体薬であるネツシムマブの治験でも使用されましたが、患者の選択における有効性は確認されませんでした (2019年Diaz-Serrano氏他)。

IHCアッセイでは抗体を使用して、EGFR L858Rエクソン21変異、および一部のエクソン19欠失変異に関係している変異型EGFRタンパク質を検出することができます。抗L858R抗体の感受性と特異性は許容範囲内ですが、臨床現場で確認されるエクソン19欠失変異の範囲では、抗体はすべての変異体タンパク質を同定できません。抗体はエクソン19内の15塩基対の欠失のみを検出し、それ以外の感受性欠失は検出しないからです(2013年Cooper氏他、2014年Chen氏他)。したがって、すべてのエクソン19欠失変異に対する感受性は低く、臨床現場で日常的に受容できるレベルを下回ります。ただし、変異配列の検査ができない場合、または変異検査の所要時間が長いため、1~2日で結果が得られるIHC検査の依頼があった場合は、IHC検査が臨床現場で使用されます(図19-1)。College of American Pathologists (CAP)、International Association for the Study of Lung Cancer (IASLC)、およびAssociation for Molecular Pathology (AMP)が発行する分子検査ガイドラインの最新版では、このようなIHCを使用したEGFR変異検査のアプローチを一般診療に推奨していません(2018年Lindeman氏他)。

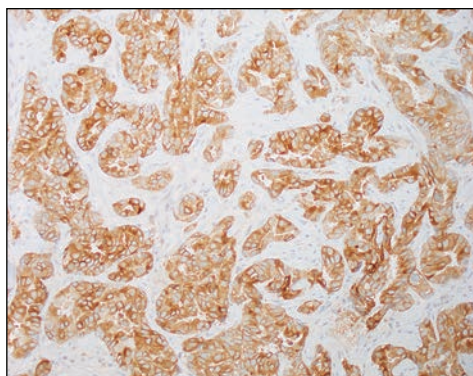


図19-1.肺の転移性腺癌(86歳女性、乳房コア生検)。腫瘍はEGFRエクソン19欠失変異特異的抗体に陽性を示している(E746\_A750del- clone 6B6、Roche Tissue Diagnostics)。

## まとめの回答

EGFR WT IHCには、現時点で広く推奨されている臨床的使用法はありません。特定の状況下では、限定的範囲の変異型EGFRタンパク質を検出するIHCが使用されることがあります。

## ALK遺伝子再構成を有する腫瘍の検出でIHCが果たす役割

未分化リンパ腫キナーゼ(ALK: Anaplastic lymphoma kinase) IHCは、ALK遺伝子再構成を有する患者を特定するうえで重要な役割を果たします。ALK IHCはスクリーニングツールとして使用されることもありますが、米国食品医薬品局(FDA: U.S. Food and Drug Administration)の認可も取得しており、ALK遺伝子再構成の実際的かつ直接的な証拠がない場合に治療法を決定する検査として、VENTANA ALK (D5F3) CDxアッセイと共に使用されます(2018年Lindeman氏他)。

ALK遺伝子再構成を有するNSCC腫瘍細胞の細胞質には、ALKタンパク質の緩やかな増殖が見られます。一部の神経細胞を除き、ALKタンパク質は正常な成体組織では検出されません(2013年HallbergおよびPalmer氏)。その結果、NSCC患者を特定するための早くて安価な手法として、ALK IHCスクリーニングが導入されました。これらの患者のサンプルは、蛍光in situハイブリダイゼーション(FISH: fluorescence in situ hybridization)またはその他の分子検査による確認が必要でした。ALK IHCによって、検査集団の約4%にしか発現しない分子異常を検出するために、検査室が多数の高額なFISH検査を実施する必要がなくなります。ALK1クローン(ALKタンパク質レベルが高い未分化リンパ腫の診断で一般的に使用されていた)を使用した検査は、ALK再構成NSCCに見られる低レベルのALKタンパク質を検出するには、感度が不十分で



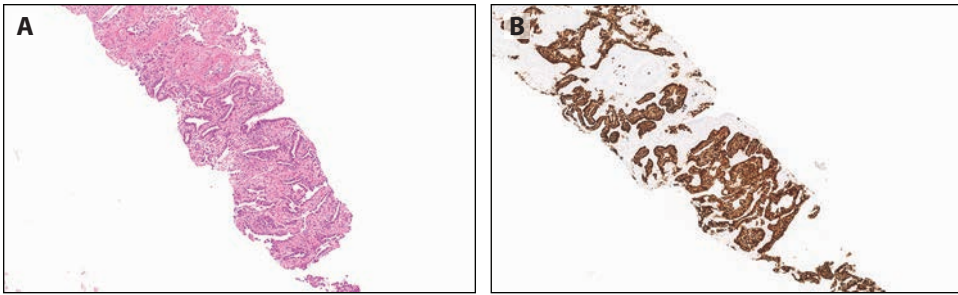


図19-2.(A)肺のコア生検。肺胞性パターンの腺癌を示している。(B)未分化リンパ腫キナーゼ (ALK) 遺伝子再構成を有する腫瘍。5A4クローンベースの薬事承認アッセイを使用したALK IHCで強い陽性を示した。

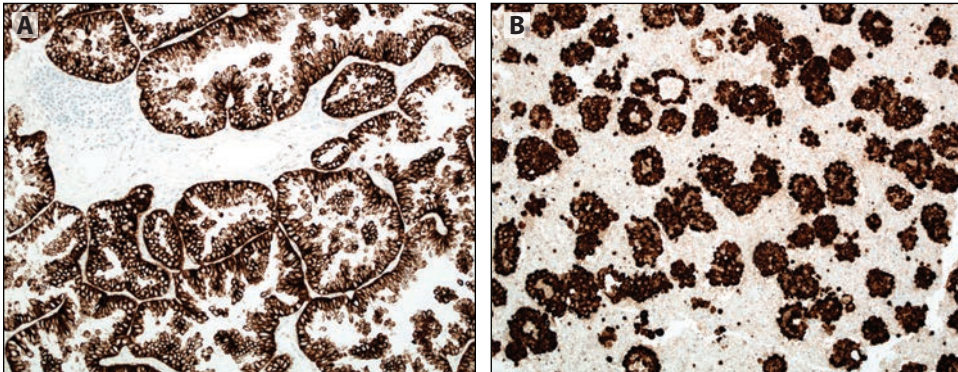


図19-3.VENTANA ALK (D5F3) CDxアッセイで、未分化リンパ腫キナーゼ (ALK) に対して強度かつびまん性の染色が見られる肺腺癌。(A)は外科的生検、(B)は胸水セルブロックを使用。両症例とも、蛍光in situハイブリダイゼーション (FISH) 検査でALK遺伝子再構成が確認された。

あることが判明しました(2010年Mino-Kenudson氏)。5A4およびD5F3抗ALKクローンをを用いたアッセイが開発され、これらのアッセイを使用してNSCCサンプルの集団をスクリーニングし、ALK遺伝子再構成の症例を識別できることが複数の試験で証明されました(図19-2および19-3)(2016年Tsao氏)。感度は全体として十分であるものの、個々の薬事承認検査(LDT: laboratory-developed test)の検出化学反応によっては特異度が低くなります(特にIHC陽性が低レベルな場合)(2013年Tsao氏他、2014年Blackhall氏他、2014年von Laffert氏他、2013年Minca氏他、2013年Selinger氏他、2013年Nitta氏他)。こうした理由から、これらのアッセイはスクリーニングツールとして、確認用FISHまたはその他の分子検査における患者の選定で最もよく利用されています(2018年Lindeman氏他)。ただし、癌治療チームが独自のALK IHC LDTアッセイを検証し、特異度が十分に高く、関係する規制当局の許可が得られた場合は、そのアッセイをそのまま治療法の決定に使用することもあります。しかし、ALK LDT検査の性能は、一部の外部品質評価スキームでは容認可能な水準に達していない点に注意が必要です(2016年Ibrahim氏他)。VENTANA ALK (D5F3) Cdxアッセイは感度および特異度が高く、進行期のNSCCにALK TKIを使用するうえで、患者の治療法を選択するための検査法として承認されています。このアッセイでは、検出システムのチラミッド増幅ステップを使用して、ALK再構成を伴うNSCCサンプルの染色のダイナミックレンジを除去し、実質的に2つの値、すなわち陽性が陰性かを読み出します。VENTANA ALK (D5F3) CDxアッセイは、NSCCにおけるALK遺伝子再構成の存在との高い相関性を明らかにします(2013年Nitta氏他)。

NSCCにおけるALK再構成の検査で興味深い点は、ALK遺伝子再構成が陽性でIHCが陰性の患者よりも、腫瘍に再構成が見られるIHC陽性の患者の方が高い反応性を示すというエビデンスが、学術研究とALEX試験の両方で確認されていることです(2017年van der Wekken氏他、2017年Mok氏他)。これは理にかなっています。なぜならタンパク質は癌遺伝子の一部であり、薬剤の標的であるからです。さらにこれは、次世代シーケンシング(NGS: next-generation sequencing)によってALK遺伝子再構成が検出された患者に対するALK IHCの潜在的役割も示唆しています。「結論」を参照)。

最後に、FISHや分子検査による確認を行わずにALK IHCを使用する際の注意点を記しておきます。悪性度が高い肺神経内分泌癌の最大約20%は、遺伝子再構成が存在しなくても強度かつびまん性のALK IHC陽性を示します(図19-4)。このような腫瘍は、甲状腺転写因子-1(TTF1: thyroid transcription factor-1) IHC陽性に基づいて腺癌と誤診される場合があります(特に形態学的に診断が難しい小細胞の場合)(2019年Kondoh氏他)。

### まとめの回答

ALK IHCは、進行期のNSCC患者に対するALK予測バイオマーカー検査で重要な役割を果たします。

### ROS1遺伝子再構成を有する腫瘍の検出でIHCが果たす役割

c-ros癌遺伝子1(ROS1: c-ros oncogene 1)遺伝子再構成検査は、ALK検査に比べて発展が遅れています。コンパニオン診断に使用できるROS1 IHC検査はありません。また、ROS1 IHC検査の利用は有効性が立証され推奨されていますが、この方法はROS1遺伝子再構成のFISHまたは分子検査において、検査集団を絞り込むためのスクリーニングツールとしてのみ使用されます(2018年therefore氏他、2016年Tsao氏他)。したがって、現在利用されているすべてのROS1 IHC検査は、当然のことながらLDTです。臨床現場ではD4D6クローンがよく使用されます。公開データでは、十分な感度のアッセイ(図19-5)が開発可能であることが示されていますが、最適なALK IHCアッセイに比べると全体的に特異度が低くなります(2016年Bubendorf氏他、2017年Selinger氏他)。ROS1タンパク質のレベルは、再構成を有する腫瘍の各部位で異なる場合があるため、生検サンプリングでエラーが発生する可能性があります。また、再構成が存在しても発現レベルが非常

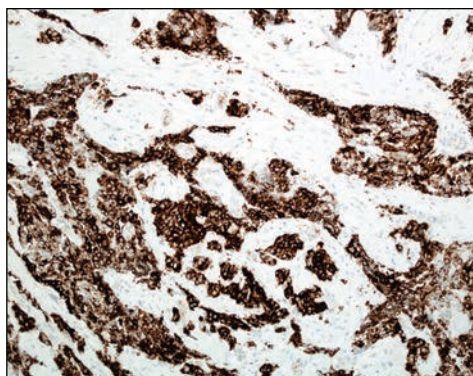


図19-4.小細胞癌陽性を示す気管支内生検サンプル。VENTANA ALK (D5F3) CDxアッセイを使用。蛍光in situハイブリダイゼーション(FISH)検査で再構成は確認されなかった。

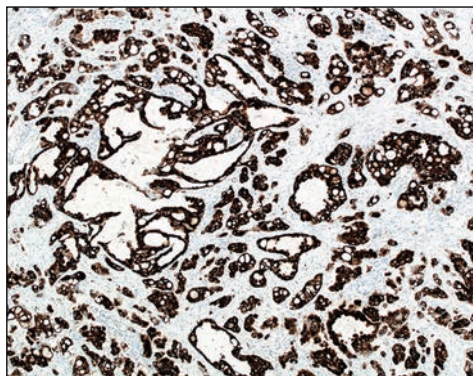


図19-5.肺腺癌のc-ros癌遺伝子1(ROS1)を示すびまん性染色。D4D6ベースのアッセイを使用。この症例では、蛍光in situハイブリダイゼーション(FISH)検査でROS1遺伝子再構成が確認された。



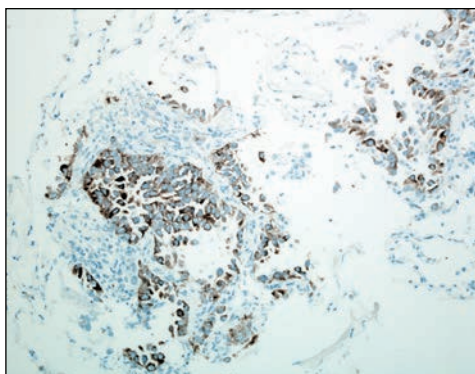


図19-6.肺のコア生検でc-ros癌遺伝子1 (ROS1) 陽性染色を示す腺癌。D4D6ベースのアッセイを使用。蛍光in situハイブリダイゼーション(FISH)検査で遺伝子再構成は確認されなかった。

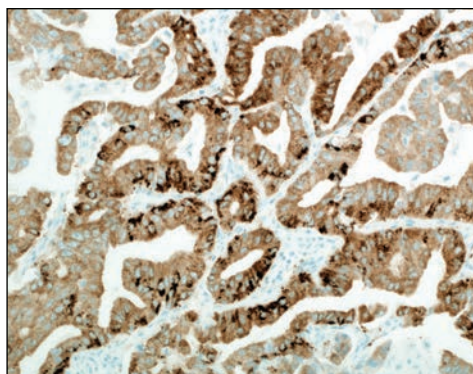


図19-7.c-ros癌遺伝子1 (ROS1) 遺伝子再構成およびROS1の陽性染色を示す肺腺癌。SP384クローンを使用。こうした症例でよく見られる、染色の強度と粒度の特性におけるばらつきが明確に現れている。

に低く、IHCスクリーニングで融合遺伝子が発見されない可能性もあります。これとは逆に、腺癌はROS1融合がなくても、限局的で中程度から強度の陽性を示すことがあります(図19-6)。ROS1遺伝子再構成が確認されるのは、ROS1 IHC陽性の症例のうちわずか20%であることがデータで明らかになっています(2016年Tsao氏他)。近年、抗ROS1 SP384クローンの使用が可能になり(Roche Tissue Diagnostics)、スクリーニングツールとしての有効性も確認されました(図19-7)(2019年Huang氏他、2019年Conde氏他、2019年Hofman氏他)。

こうした状況下での治療反応とIHC陽性の関連性を示すデータはまだありませんが、研究する価値があることは確かです。

### まとめの回答

ROS1 IHCは、代替の分子検査でROS1遺伝子再構成を確認する際に、進行期のNSCCを有する患者集団を絞り混むための手法として確立されています。

### IHCはNTRK1-3遺伝子再構成を有する腫瘍の同定に役立つか？

前述の変異に比べると、NSCCにおける神経栄養因子受容体チロシンキナーゼ

(NTRK: neurotrophic tyrosine receptor kinase) 融合遺伝子は検査実績が多くはありませんが、この分野でもIHC陽性スクリーニングの新しいパラダイムが登場しています。特に、NSCCでのNTRK再構成は非常にまれ(0.1%~1%)(2018年Farago氏他)であるため、多くの検査室にとって、関連するすべての症例をFISHなど単独の検査でスクリーニングするのは現実的でないことを考えると、このパラダイムは重要です。データは限られていますが、EPR17341クローンを使用したpan-TRK IHC(図19-8)(Abcam)では、別の方法で検出されたNTRK1-3遺伝子再構成の存在との相関性が証明されており、これは実現可能なスクリーニング戦略と言えます(2017年Hechtman氏他)。このNSCCバイオマーカー検査という複雑な分野へのアプローチは、現在も開発が進められていますが、いくつかの推奨事項が公開されています(2019年Penault-Llorca氏他、2019年Marchio氏他)。遺伝子再構成がない場合でも、神経内分泌腫瘍がNTRK IHC陽性を示すことがあります(図19-9)(K.M.Kerr氏、個人的所見)。



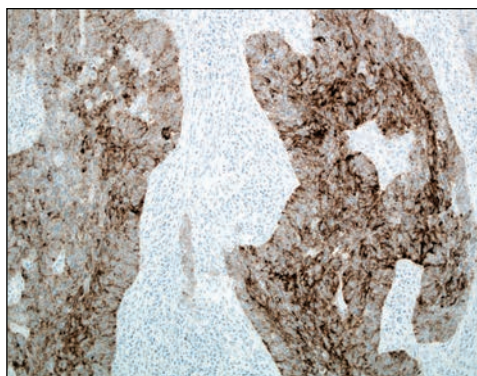


図19-8.陽性染色を示す肺腺癌。pan-TRK IHCを使用。

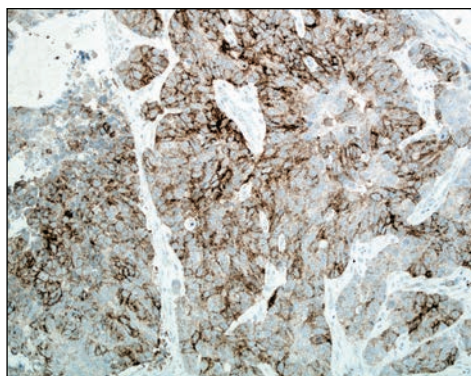


図19-9.肺大細胞神経内分泌癌。pan-TRK IHC陽性を示すが、神経栄養因子受容体チロシナーゼ (NTRK) 遺伝子再構成のエビデンスは認められない。

## まとめの回答

NTRK1-3遺伝子再構成の検出を補助するIHC検査は、新しい技術であり、その有効性は立証されていません。

## その他の標的遺伝子変異の予測バイオマーカー検査でIHCは役に立つか？

B-rafプロトオンコジーンタンパク質 (BRAF: B-raf proto-oncogene protein) とMEKキナーゼ阻害薬は、BRAF V600E変異の患者への使用が多くの国で承認されています (2017年Planchard氏他、2018年PlanchardおよびJohnson氏、2018年Leonetti氏他)。これらの治療の適応となる患者の特定用として承認された方法には、シーケンス法が用いられます。IHCアッセイ用の抗体を使用して、V600E変異体タンパク質を同定することができます。この方法は悪性メラノーマの患者に使用されることもありますが、NSCC患者への使用は推奨されていません (2018年Lindeman氏他)。

MET向けのIHCアッセイは、抗METモノクローナル抗体薬のオナルツズマブと共に使用する、推定および選択的バイオマーカーとして導入されました (2017年Spigel氏他)。SP44クローンを使用したアッセイにおいて、METの発現レベルが高かったため、患者アウトカムの向上を促進すると思われましたが、この治療法には規制当局の認可が下りませんでした。最近では、NSCCのMET変異が、2種類の設定において再び薬剤標的の対象となっています。そのうちの 하나가 de novo MET遺伝子増幅であり、おそらくより重要な点は、EGFR TKI治療後に再発を引き起こす耐性メカニズムとの関連における、MET標的療法のバイオマーカーとしての役割です (2017年Salgia氏、2019年Wang氏他)。このような治療は、MET遺伝子のエクソン14とその周辺領域に広範囲な変異を伴う腫瘍が見られる患者にも実施されています。この変異は、METタンパク質の分解機能を損なうことによって、転写時にエクソン14のスキッピングと癌遺伝子の活性化を引き起こします (2017年Salgia氏、2015年Paik氏他)。両方のシナリオにおいて、MET標的分子検査で腫瘍をスクリーニングする際のIHCマーカーとして、タンパク質レベルの上昇を使用できると結論付けられました (ただし、有用性がより高いのはMETエクソン14スキッピングの症例)。これまでの調査報告から推察すると、METのIHC陽性はゲノム変化の存在と関連しているとはいえ、これまでに実施されたIHCアプローチは、スクリーニングツールとして用いるには感度および特異度が不十分であり、多数の症例が見逃されることが考えられます (2020年Baldacci氏他、2019年Guo氏他)。このような状況で、NSCCでのMET IHCの将来を見通すことはできません。

HER2 IHCは、乳癌の予測診断検査として確立されていますが、現時点で肺癌検査での有効性は認められていません。肺癌では、HER2変異はまれにしか確認されず、タンパク質の過剰発現の方が多く見られます。最近のデータは、こうした患者群への効果的な標的療法の可能性を提起しています(2020年Smit氏他)。HER2 IHCは最新の検査シナリオに含まれていませんが、この状況は将来変わる可能性があります。

retプロトオンコジーン(*RET*: ret proto-oncogene)の遺伝子再構成は、この変異を有するNSCCに有効な複数の新しい薬剤にとって、肺癌の希少な標的として有望です。先述したALK、ROS1、およびNTRK検査のパラダイムに続き、RET IHCも関心を集めており、その有用性が期待されますが、現時点で利用可能なデータはありません。

*NRG1*遺伝子再構成は、NSCC、特に浸潤性粘液性腺癌の症例に見られ、EGFR TKI治療による効果が見込まれることが確認されています。これらの症例では*NRG1*タンパク質のIHC陽性が確認されていますが、そのようなアッセイの有効性は立証されていません(2019年NagasakaおよびOu氏、2018年Trombetta氏他)。

小細胞癌では近年、抗体-細胞傷害性薬物複合体であるロバルピツズマブテシリン用の強化戦略として、*DLL3*のIHC検査が推進されてきました(2019年Morgensztern氏他)。治験の結果が芳しくなかったことと、毒性が強いことから、現在この薬剤の規制当局への承認申請は行われていません(2019年Morgensztern氏他、2019年Mullard氏)。

## まとめの回答

ここで取り上げた、標的となり得るその他の変異を有する患者の特定において、IHC検査の有効性は立証されていません。

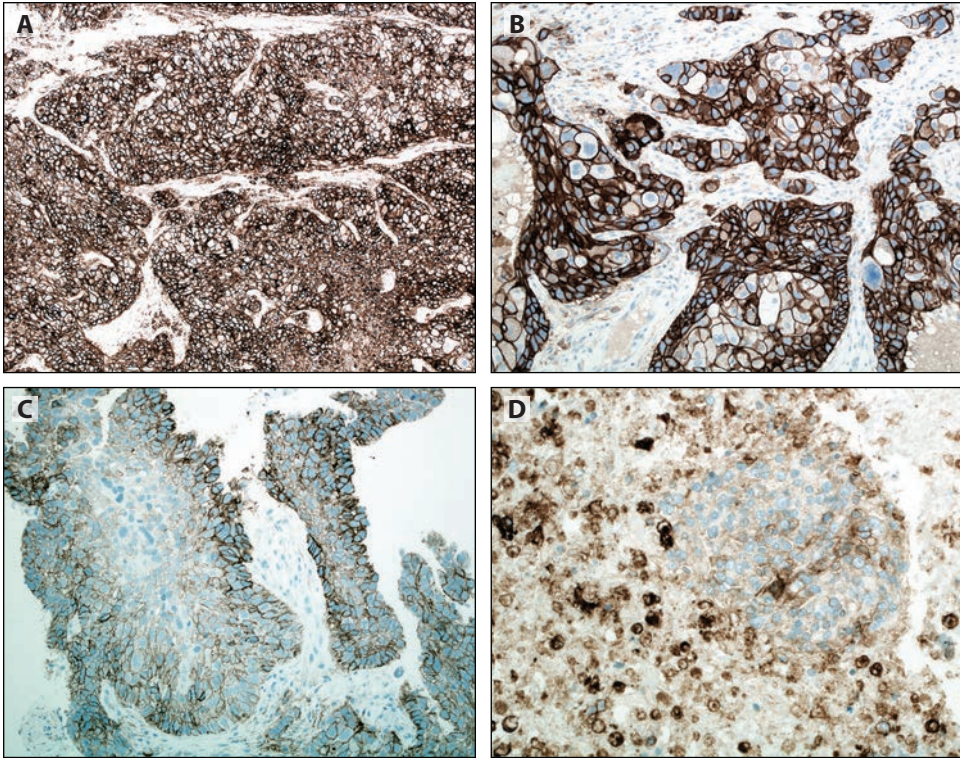
## 免疫療法の適応となるNSCC患者の選択でPD-L1 IHCが果たす役割

PD-L1のIHCは、ステージIIIおよびIVのNSCCに対する一般的なバイオマーカー検査アルゴリズムとして広く認められています。「*IASLC Atlas of PD-L1 Immunohistochemistry Testing in Lung Cancer*」を始め、このトピックについては各所で広範囲な検討が進んでいます(2017年Tsao氏他)。ここでは、重要な点についてのみ簡単に説明します。

PD-L1発現のIHCによって、抗プログラム細胞死タンパク質-1 (PD1: programmed cell death protein-1)または抗PD-L1抗体薬の効果が期待できるNSCC患者集団を絞り込めることが、一貫して証明されています。染色強度にかかわらず、細胞膜にPD-L1を発現する腫瘍細胞の割合が大きいほど、治療の有効性が高くなります(図19-10)。NSCC患者で調査した大半の薬剤のPD-L1 IHCバイオマーカーは、腫瘍細胞での発現のみに関与します。ただし、アテゾリズマブは、SP142クローンと、腫瘍細胞と免疫細胞の両方におけるPD-L1の発現に基づいたPD-L1アッセイを使用して開発されています(図19-11)(2016年Fehrenbacher氏他)。

PD-L1発現レベルから臨床転帰までの用量反応性は、臨床試験の2次治療やより大規模な免疫療法に譲るとして、この設定でペムブロリズマブを処方する場合は、腫瘍細胞におけるPD-L1陽性細胞の割合(TPS: tumor proportion score)が1%以上とされています(2016年Herbst氏他)。その他の承認済み阻害薬は、PD-L1の発現とは無関係に投与される場合があるため、この状況での検査が補完的役割を果たすと考えられます(2015年Borghaei氏他、2015年Borghaei氏他、2016年Fehrenbacher氏他)。1次治療のペムブロリズマブ単剤療法では、50%以上のPD-L1 IHC TPSが必要とされており、この設定におけるコンパニオン診断としては22C3およびSP263アッセイ(下記の項を参照)が承





**図19-10.(A)および(B)**低分化腺癌。細胞膜に強度かつ広範囲なプログラム細胞死リガンド-1 (PD-L1) 陽性が認められる。**(C)**さまざまな腫瘍細胞膜染色の特性パターンを示す扁平上皮癌。気管支内超音波 (EBUS: endobronchial ultrasound) 細胞診セルブロックの転移性NSCC。非常に限局的な腫瘍細胞染色を示している。**(D)**にはマクロファージおよび細胞残屑の染色も見られる。染色にはDako 22C3 pharmDxアッセイを使用。

認されています (2016年Reck氏他、VENTANA PD-L1 (SP263)アッセイ)。PD-L1 IHC TPSによってアウトカムに大きな差があるにもかかわらず、1次治療のペムブロリズマブとプラチナ併用化学療法の組み合わせは、PD-L1の発現とは関係なく承認されています。一般的にこの診断は、個々の患者に合わせた綿密な治療選択に役立つ補完的診断と見なされています (2019年Mok氏他、2019年b Peters氏他)。ステージIIIのNSCCでは、その後の化学放射線療法で使用されるPD-L1阻害薬として、デュルバルマブが承認されています。米国では、デュルバルマブの承認においてPD-L1の発現は考慮されていません。ただし、治療の有効性とPD-L1 TPSの高さには相関関係があります (2017年および2018年Antonia氏他)。欧州では、論議を呼んだPacific試験データの事後解析で、TPS 1%未満のコホートに全生存期間の有益性が認められなかったため、Pacificレジメンでの使用にはPD-L1 IHC検査と1%以上のTPSが欧州医薬品庁によって義務付けられています (2019年a Peters氏他)。

前述した適応も含め、最も開発が進んでいる5つの抗PD1またはPD-L1抗体薬は、ペムブロリズマブ、ニボルマブ、デュルバルマブ、アテゾリズマブ、アベルマブです。これらの各抗体薬は、PD-L1 IHCアッセイを使用した臨床試験を通じて開発され、試験では抗PD-L1 IHCクローンの22C3、28-8、SP263、SP142、73-10がそれぞれ使用されました。PD-L1アッセイの種類が多さに癌専門医は混乱し、病理医は驚愕しました。病理医にとって主なジレンマは、どの検査を実施すべきかということでした。ほ



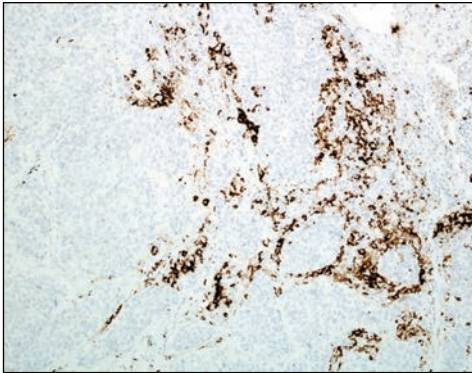


図19-11.充実性パターンの肺腺癌の周囲で、間質免疫細胞内にプログラム細胞死リガンド-1 (PD-L1)を明確に示す染色が見られる。腫瘍細胞の陽性反応は認められない。染色にはVENTANA PD-L1 (SP142)アッセイを使用。

とんどの検査室は、これらすべてのアッセイを適切に実施することはできません。したがって、1つのアッセイを実施し、その結果を先行するすべての適応症に利用できるかどうかの問題です。臨床試験で検証されたこれらのアッセイの類似点は何でしょうか？IASLC BluePrint調査を始めとする複数のアッセイ比較調査では、22C3、28-8、およびVENTANA PD-L1 (SP263)アッセイの間に、NSCC TPSの評価に関してある程度一致する点があることが判明しました(2017年Hirsch氏他、2016年Scheel氏他、2017年Ratcliffe氏他、2018年Hendry氏他、2018年Adam氏他、2018年Tsao氏他、2017年Rimm氏他、2020年Torlakovic氏他)。VENTANA PD-L1 (SP142)アッセイ

は常に低いTPSスコアを示すのに対し、73-10アッセイは非常に感度が高く、アベルマブ試験では、80%のTPSスコアが22C3アッセイでの50%のスコアと同等であると見なされました(2018年Barlesi氏他)。VENTANA PD-L1 (SP263)アッセイが、22C3アッセイよりも実質的に感度が高いことを示す新しいデータもありますが、その程度と有意性は現時点で不明です(2018年Hendry氏他、2018年Munari氏他)。

一部の検査室では、業務用の試験検証済みアッセイではなく、独自のPD-L1 LDTアッセイを使用します。これらのLDTは、試験検証済みアッセイに匹敵する技術性能を発揮しますが(2018年Adam氏他、2016年Neuman氏他、2017年Roge氏他)、それを保証するものがないため、厳密な内部および外部品質評価による検証が必要です(2019年Cheung氏他)。

上記の臨床試験や業務用アッセイの開発では、細胞診タイプのサンプルは使用されませんでした。したがって、臨床的なPD-L1検査では、細胞診タイプの材料の使用は敬遠されてきました。しかし、現在は多くの文献で、同じ腫瘍から採取した細胞診サンプルと組織診サンプルを比較した場合、試験検証済みアッセイを使用したPD-L1 TPS評価でほぼ同等の性能を得られることが報告されています(2017年Heymann氏他、2017年Buttner氏他、2017年SkovおよびSkov氏、2020年Gosney氏他、2019年Yatabe氏他)。細胞診タイプのサンプルを固定、処理、および作成して染色する方法にはばらつきがあるため、解析前のこれらの手順には注意が必要です。標準化が進めば、これらの試験結果を臨床現場で日常的に利用できるようになるでしょう。臨床的なPD-L1検査に細胞診タイプのサンプルを使用する検査室は、同等の性能を得るために、検査室での手順を内部で検証することが推奨されます。

## まとめの回答

NSCCの免疫療法に使用できる新しいバイオマーカーの登場が強く待たれるところですが、PD-L1 IHCは今後も、抗PD1およびPD-L1免疫療法との関連で必要とされる、NSCC臨床サンプルの評価の一環として使用されるでしょう。ただし、さまざまなアッセイ、サンプルタイプ、腫瘍細胞および免疫細胞での発現、臨床的意思決定でのIHCデータの利用方法などに関する疑問は解消されていません。

## 免疫療法の患者を選択する腫瘍微小環境評価にIHCを使用できるか？

IHCは、細胞レベルの腫瘍炎症の程度や、現在のNSCCの免疫療法に対する感受性または耐性を示すその他の調節分子の評価に利用できる可能性があります。ただし、承認済み治療法でこれらの因子は認められていないため、データが相対的に少なく、すべてはいまだ治験段階にあります。腫瘍炎症の評価にはCD8 IHCが使用されており（2018年Conde氏他）、同じ腫瘍サンプルで同時に複数の細胞因子を評価する方法として、マルチプレックスIHCが検討されています（2019年Lu氏他）。

### まとめの回答

今後の腫瘍微小環境因子の評価および利用方法は、まだ確定していません。これらについては、堅実なエビデンスと臨床試験に基づいて決定する必要があります。

### 結論

IHCは、臨床的NSCCサンプルにおいて、タンパク質（その多くは癌遺伝子の一部）の状態や薬剤の標的を直接調査できる、比較的シンプルかつ安価でありながら強力なツールです。NSCCの個別化治療における分子革命では、主としてゲノム変化に重点が置かれました。変異やその他のゲノムに関する大量のデータには、科学的価値と説得力があります。ただし前述したとおり、IHCを用いたプロテオーム評価も、NSCC診断を実施して最も効果的な治療を選択するうえで、重要な役割を果たしています。NSCC患者の腫瘍に臨床的に使用できるバイオマーカーの増加に伴い、ゲノムバイオマーカー情報や突然変異、融合遺伝子、さらには遺伝子コピー数にも対応する「ワンストップショップ」として、マルチプレックスおよび平行NGSへの期待も高まっています。分子検査のプラットフォームとしてNGSの標準化が進むにつれて、ここで説明したIHCの利用は縮小または消滅するのでしょうか？確かに、それを示唆する最新治療も一部のセンターでは見られます。では、ALK遺伝子再構成に関連するタンパク質発現の重要性に関するデータはどうでしょうか？新しいパラダイムが登場し、薬剤の効果をより正しく予測するために、NGSで検出された融合遺伝子にタンパク質の証明が必要になるでしょうか？これは的を射た論理的な疑問です。これに答えるためのデータを、製薬会社の治験または科学界のどちらから得られるか、現時点では不明です。

### 参考文献

- Adam J, Le Stang N, Rouquette I, et al. Multicenter harmonization study for PD-L1 IHC testing in non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol*. 2018;29(4):953-958.
- Antonia SJ, Villegas A, Daniel D, et al. Durvalumab after chemoradiotherapy in stage III non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2017;377(20):1919-1929.
- Antonia SJ, Villegas A, Daniel D, et al. Overall survival with durvalumab after chemoradiotherapy in stage III NSCLC. *N Engl J Med*. 2018;379(24):2342-2350.
- Baldacci S, Figeac M, Antoine M, et al. High MET overexpression does not predict the presence of MET exon 14 splice mutations in MSCLC: results from the IFCT PREDICT.amm study. *J Thorac Oncol*. 2020;15(1):120-124.
- Barlesi F, Vansteenkiste J, Spigel D, et al. Avelumab versus docetaxel in patients with platinum-treated advanced non-small-cell lung cancer (JAVELIN Lung 200): an open-label, randomised, phase 3 study. *Lancet Oncol*. 2018;19(11):1468-1479.
- Blackhall FH, Peters S, Bubendorf L, et al. Prevalence and clinical outcomes from patients with ALK-positive resected stage I to III adenocarcinoma: results from the European Thoracic Oncology Platform Lungscape Project. *J Clin Oncol*. 2014;32(25):2780-2878.
- Borghaei H, Ares-Paz L, Horn L, et al. Nivolumab versus docetaxel in advanced nonsquamous non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2015;373(17):1627-1639.

- Brahmer J, Reckamp KL, Baas P, et al. Nivolumab versus docetaxel in advanced squamous-cell non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2015;373(2):123-135.
- Bubendorf L, Buttner R, Al-Dayel F, et al. Testing for ROS1 in non-small lung cancer: a review with recommendations. *Virchows Arch*. 2016;469(5):489-503.
- Buttner R, Gosney JR, Skov BG, et al. Programmed death ligand-1 immunohistochemistry testing: a review of analytical assays and clinical implementation in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2017;35(34):3867-3876.
- Chen Z, Liu HB, Yu CH, et al. Diagnostic value of mutation-specific antibodies for immunohistochemical detection of epidermal growth factor receptor mutations in non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *PLoS One*. 2014;9(9):e105940.
- Cheung CC, Lim HJ, Garatt J, et al. Diagnostic accuracy in fit-for-purpose PD-L1 testing. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2019;27(4):251-257.
- Clark GM, Zborowski DM, Culbertson JL et al. Clinical utility of epidermal growth factor receptor expression for selecting patients with advanced non-small cell lung cancer for treatment with erlotinib. *J Thorac Oncol*. 2006;1(8):837-846.
- Conde E, Caminoa A, Dominguez C, et al. Aligning digital CD8+ scoring and targeted next-generation sequencing with programmed death ligand 1 expression: a pragmatic approach in early-stage squamous cell lung carcinoma. *Histopathology*. 2018;72(2):270-284.
- Conde E, Hernandez S, Martinez R, et al. Assessment of a new ROS1 immunohistochemistry clone (SP384) for the identification of ROS1 rearrangements in patients with non-small cell lung carcinoma: the ROSING Study. *J Thorac Oncol*. 2019;14(12):2120-2132.
- Cooper WA, Yu B, Yip PY, et al. EGFR mutant-specific immunohistochemistry has high specificity and sensitivity for detecting targeted activating EGFR mutations in lung adenocarcinoma. *J Clin Pathol*. 2013;66(9):744-748.
- Diaz-Serrano A, Sanchez-Torre A, Paz-Ares L. Nectinmab for the treatment of advanced non-small-cell lung cancer. *Future Oncol*. 2019;15(7):705-716.
- Douillard JY, Pirker R, O'Byrne KJ, et al. Relationship between EGFR expression, EGFR mutation status, and the efficacy of chemotherapy plus cetuximab in FLEX study patients with advanced non-small-cell lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2014;9(5):717-724.
- Eberhard DA, Giaccone G, Johnson BE, et al. Biomarkers of response to epidermal growth factor receptor inhibitors in Non-Small-Cell Lung Cancer Working Group: standardization in the clinical trial setting. *J Clin Oncol*. 2008;26(6):983-994.
- Farago AF, Taylor MS, Doebele RC, et al. Clinicopathologic features of non-small-cell lung cancer harbouring an NTRK gene fusion. *JCO Precis Oncol*. 2018. doi:10.1200/PO.18.00037
- Fehrenbacher L, Spira A, Ballinger M, et al. Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated non-small-cell lung cancer (POPLAR): a multicentre, open-label, phase 2 randomized controlled trial. *Lancet*. 2016;387(10030):1837-1846.
- Gosney JR, Boothman AM, Ratcliffe M, et al. Cytology for PD-L1 testing: a systematic review. *Lung Cancer*. 2020;141:101-106.
- Guo R, Berry LD, Aisner DL, et al. MET IHC is a poor screen for MET amplification of MET exon 14 mutations in lung adenocarcinomas: data from tri-institutional cohort of the Lung Cancer Mutation Consortium. *J Thorac Oncol*. 2019;14(9):1666-1671.
- Hallberg B, Palmer RH. Mechanistic insight into ALK receptor tyrosine kinase in human cancer biology. *Nat Rev Cancer*. 2013;13(10):685-700.
- Hechtman JF, Benayed R, Hyman DM, et al. Pan-TRK immunohistochemistry is an efficient and reliable screen for the detection of NTRK fusions. *Am J Surg Pathol*. 2017;41(11):1547-1551.
- Hendry S, Byrne DJ, Wright GM, et al. Comparison of four PD-L1 immunohistochemical assays in lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2018;13(3):367-376.
- Herbst RS, Baas P, Kim DW, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2016;387(10027):1540-1550.
- Heymann JJ, Bulman WA, Swinarski D, et al. PD-L1 expression in non-small cell lung carcinoma: comparison among cytology, small biopsy, and surgical resection in specimens. *Cancer Cytopathol*. 2017;125(12):896-907.
- Hirsch FR, McElhinny A, Stanforth D, et al. PD-L1 immunohistochemistry assays for lung cancer: results from phase 1 of the BluePrint PD-L1 IHC assay comparison project. *J Thorac Oncol*. 2017;12(2):208-222.
- Hofman V, Rouquette I, Long-Mira E, et al. Multicenter evaluation of a novel ROS1 immunohistochemistry assay (SP384) for detection of ROS1 rearrangements in a large cohort of lung adenocarcinoma patients. *J Thorac Oncol*. 2019;14(7):1204-1212.
- Huang RSP, Smith D, Le CH, et al. Correlation of ROS1 immunohistochemistry with ROS1 fusion status determined by fluorescence in situ hybridization. *Arch Pathol Lab Med*. Published online September 11, 2019. doi:10.5858/arpa.2019-0085-OA



- Ibrahim M, Parry S, Wilkinson D, et al. ALK immunohistochemistry in NSCLC: discordant staining can impact patient treatment regimen. *J Thorac Oncol*. 2016;11(12):2241-2247.
- Kondoh C, Horio Y, Hayashi Y, et al. Anaplastic lymphoma kinase expression in small-cell lung cancer. *Histopathology*. 2019;75(1):20-28.
- Leonetti A, Facchinetti F, Rossi G, et al. BRAF in non-small cell lung cancer (NSCLC): pickaxing another brick in the wall. *Cancer Treat Rev*. 2018;66:82-94.
- Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, et al. Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *J Thorac Oncol*. 2018;13(3):323-358.
- Lu S, Stein JE, Rimm DL, et al. Comparison of biomarker modalities for predicting response to PD-1/PD-L1 checkpoint blockade: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Oncol*. 2019;5(8):1195-1204.
- Marchio C, Scaltriti M, Ladanyi M, et al. ESMO recommendations on the standard methods to detect NTRK fusions in daily practice and clinical research. *Ann Oncol*. 2019;30(9):1417-1427.
- Minca EC, Portier BP, Wang Z, et al. ALK status testing in non-small cell lung carcinoma: a correlation between ultrasensitive IHC and FISH. *J Mol Diagn*. 2013;15(3):341-346.
- Mino-Kenudson M, Chirieac LR, Law K, et al. A novel, highly sensitive antibody allows for the routine detection of ALK-rearranged lung adenocarcinomas by standard immunohistochemistry. *Clin Cancer Res*. 2010;16(5):1561-1571.
- Mok T, Peters, S, Camidge DR, et al. Patients with ALK IHC-positive/FISH-negative NSCLC benefit from ALK TKI treatment: response data from the global ALEX trial. *J Thorac Oncol*. 2017;12(11):S1739-S1749.
- Mok TSK, Wu YL, Kudaba I, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for previously untreated, PD-L1-expressing, locally advanced or metastatic non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-024): a randomised, open-label, controlled, phase 3 trial. *Lancet*. 2019;393(10183):1819-1830.
- Morgensztern D, Besse B, Greillier L, et al. Efficacy and safety of rovalpituzumab tesirine in third-line and beyond patients with DLL3-expressing, relapsed/refractory small-cell lung cancer: results from the phase II TRINITY study. *Clin Cancer Res*. 2019;25(23):6958-6966.
- Mullard A. Cancer stem cell candidate Rova-T discontinued. *Nat Rev Drug Discov*. 2019;18(11):814.
- Munari E, Rossi G, Zamboni G, et al. PD-L1 assays 22C3 and SP263 are not interchangeable in non-small cell lung cancer when considering clinically relevant cutoffs: an interclone evaluation by differently trained pathologists. *Am J Surg Pathol*. 2018;42(10):1384-1389.
- Nagasaka M, Ou SI. Neuregulin 1 fusion-positive NSCLC. *J Thorac Oncol*. 2019;14(8):1354-1359.
- Neuman T, London M, Kania-Almog J, et al. A harmonization study for the use of 22C3 PD-L1 immunohistochemical staining on Ventana's platform. *J Thorac Oncol*. 2016;11(11):1863-1868.
- Nitta H, Tsuta K, Yoshida A, et al. New methods for ALK status diagnosis in non-small-cell lung cancer: an improved ALK immunohistochemical assay and a new, Brightfield, dual ALK IHC-in situ hybridization assay. *J Thorac Oncol*. 2013;8(8):1019-1031.
- Paik PK, Drilon A, Fan PD, et al. Response to MET inhibitors in patients with stage IV lung adenocarcinomas harbouring MET mutations causing exon 14 skipping. *Cancer Discov*. 2015;5(8):842-849.
- Penault-Llorca F, Rudzinski ER, Sepulveda AR. Testing algorithm for identification of patients with TRK fusion cancer. *J Clin Pathol*. 2019;72(7):460-467.
- Peters S, Dafni U, Boyer M, et al. Position of a panel of international lung cancer experts on the approval decision for use of durvalumab in stage III non-small-cell lung cancer (NSCLC) by the Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). *Ann Oncol*. 2019;30(2):161-165. (a)
- Peters S, Reck M, Smit EF, et al. How to make the best use of immunotherapy as first-line treatment of advanced/metastatic non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol*. 2019;30(6):884-896. (b)
- Planchard D, Johnson BE. BRAF adds an additional piece of the puzzle to precision oncology-based treatment strategies in lung cancer. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(7):796-797.
- Planchard D, Smit EF, Groen HJM, et al. Dabrafenib plus trametinib in patients with previously untreated BRAF<sup>V600E</sup>-mutant metastatic non-small-cell lung cancer: an open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2017;18(10):1307-1316.
- Ratcliffe MJ, Sharpe A, Midha A, et al. Agreement between programmed cell death ligand-1 diagnostic assays across multiple protein expression cutoffs in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2017;23(14):3585-3591.
- Reck M, Rodriguez-Abreu D, Robinson AG, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for PD-L1-positive non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2016;375(19):1823-1833.

- Rimm DL, Han G, Taube JM, et al. A prospective, multi-institutional, pathologist-based assessment of 4 immunohistochemistry assays for PD-L1 expression in non-small cell lung cancer. *JAMA Oncol.* 2017;3(8):1051-1058.
- Roge R, Vyberg M, Nielsen S. Accurate PD-L1 protocols for non-small cell lung cancer can be developed for automated staining platforms with clone 22C3. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2017;25(6):381-385.
- Salgia R. MET in lung cancer: biomarker selection based on scientific rationale. *Mol Cancer Ther.* 2017;16(4):555-565.
- Scheel AH, Dietele M, Heukamp LC, et al. Harmonized PD-L1 immunohistochemistry for pulmonary squamous-cell and adenocarcinomas. *Mod Pathol.* 2016;29(10):1165-1172.
- Selinger CI, Li BT, Pavlakis N, et al. Screening for ROS1 gene rearrangements in non-small-cell lung cancers using immunohistochemistry with FISH confirmation is an effective method to identify this rare target. *Histopathology.* 2017;70(3):402-411.
- Selinger CI, Rogers TM, Russell PA, et al. Testing for ALK rearrangement in lung adenocarcinoma: a multicentre comparison of immunohistochemistry and fluorescent in situ hybridization. *Mod Pathol.* 2013;26(12):1545-1553.
- Skov BG, Skov T. Paired comparison of PD-L1 expression on cytologic and histologic specimens from malignancies in the lung assessed with PD-L1 IHC 28-8pharmDx and PD-L1 IHC 22C3pharmDx. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2017;25(7):453-459.
- Smit EF, Nakagawa K, Nagasaka M, et al. Trastuzumab deruxtecan (T-DXd; DS-8201) in patients with HER2-mutated metastatic non-small cell lung cancer (NSCLC): interim results of DESTINY-Lung 01. *J Clin Oncol.* 2020;38 (suppl; abstr 9504).
- Spigel DR, Edelman MJ, O'Byrne K, et al. Results from the phase III randomized trial of onartuzumab plus erlotinib versus erlotinib in previously treated stage IIIB or IV non-small-cell lung cancer: METLung. *J Clin Oncol.* 2017;35(4):412-420.
- Torlakovic E, Lim HJ, Adam J, et al. "Interchangeability" of PD-L1 immunohistochemistry assays: a meta-analysis of diagnostic accuracy. *Mod Pathol.* 2020;33(1):4-17.
- Trombetta D, Graziano P, Scarpa A. Frequent NRG1 fusions in Caucasian pulmonary mucinous adenocarcinoma predicted by phosphor-ErbB3 expression. *Oncotarget.* 2018;9(11):9661-9671.
- Tsao MS, Hirsch FR, Yatabe Y, eds. *IASLC Atlas of ALK and ROS1 Testing in Lung Cancer.* 2nd ed. IASLC; 2016.
- Tsao MS, Hirsch FR, Yatabe Y, eds. *IASLC Atlas of ALK Testing in Lung Cancer.* IASLC; 2013.
- Tsao MS, Kerr KM, Dacic S, et al., eds. *IASLC Atlas of PD-L1 Immunohistochemistry Testing in Lung Cancer.* IASLC; 2017.
- Tsao MS, Kerr KM, Kockx M, et al. PD-L1 immunohistochemistry comparability study in real-life clinical samples: results of Blueprint phase 2 project. *J Thorac Oncol.* 2018;13(9):1302-1311.
- van der Wekken AJ, Pelgrim R, 't Hart N, et al. Dichotomous ALK-IHC is a better predictor for ALK inhibition outcome than traditional ALK-FISH in advanced non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2017;23(15):4251-4258.
- von Laffert M, Warth A, Penzel R, et al. Multicenter immunohistochemical ALK-testing of non-small-cell lung cancer shows high concordance after harmonization of techniques and interpretation criteria. *J Thorac Oncol.* 2014;9(11):1685-1692.
- Wang Q, Yang S, Wang K, et al. MET inhibitors for targeted therapy of EGFR TKI-resistant lung cancer. *J Hematol Oncol.* 2019;12(1):63.
- Yatabe Y, Dacic S, Borczuk AC, et al. Best practices recommendations for diagnostic immunohistochemistry in lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2019;14(3):377-407.





執筆者: Keith M. Kerr, Alain C. Borczuk, Wendy A. Cooper, Sanja Dacic, Andre L. Moreira, Yasushi Yatabe, Ming Sound Tsao

本アトラスは、胸部悪性腫瘍の診断で免疫組織化学 (IHC) が果たす重要な役割を詳細に説明しています。患者の組織サンプルの診断過程では、さまざまな場面でこの技術が活用されています。

本書では、IHCの基本原理と生化学基盤や、胸部悪性腫瘍のさまざまな診断シナリオにおけるIHC技術の有用性について述べ、世界保健機関 (WHO: World Health Organization) 分類の要旨と、外科切除症例および小生検/細胞診サンプルの診断方法を再検討しました。後者のセクションには、WHO分類と本アトラスにおいて非常に重要な内容が含まれています。なぜなら肺癌治療では、患者の少なくとも2/3が診察時に進行期の状態にあるため、病理医は診断や予測バイオマーカー検査を行う際に、小生検サンプルか細胞診サンプルしか利用できないからです。

本アトラスは、最もよく利用されている個々のバイオマーカーと、入手可能な各種クローンについても具体的に説明しています。同じ病変を同定する際に、市販のクローン間で生じる差異はきわめて重大であり、病理医が軽視しがちな問題でもあります。こうしたクローンの特性や特異性が理解されていない場合、クローン間の違いは誤った解釈や誤診の原因となります。さらに、診断用IHCアッセイの大半は、実質的には薬事未承認検査です。つまり、これらのアッセイの実施件数には、検査室によって大きな開きがあるということです。したがって、臨床での使用前に、各マーカーのアッセイプロトコルを検査室内で厳密に検証する必要があります。これとは別の問題が、IHC外部品質評価 (EQA: external quality assurance) スキームへの参加を通じて特定され、是正される場合もあります。

現在の病理診断業務はIHCに大きく依存しています。無数の高分子の同定に使用できるIHCマーカーが多数存在する時代に訓練を受けた病理医は、おそらく実際にはその必要がない場合も、「利用できるからという理由で」この技術に頼りがちになります。ただし、IHCによる診断精度の向上は、常に歓迎すべきことではありません。これとは逆に、David J. Dabb氏の「*Diagnostic Immunohistochemistry*」(2010年Dabbs氏) 第3版に寄せた序文でJuan Rosai氏が強く訴えているように、日常的な診断におけるIHCの過剰

使用、つまりIHCへの過度の依存は、病理医の誤診を招く可能性があります。特定の診断に特化したIHCマーカーはごくわずかしきありません。これらの診断マーカーの大半は、生理学的に発現します。したがって、IHCの検査結果は、常に腫瘍の形態学的特徴と関連付けて判断することが最も重要です。

これは肺癌の診断、特に小さなサンプルを診断する場合についても同様です。IHCの過剰使用を避ける重要性は、WHO分類その他(2018年Lindeman氏他)で強調されています。初回診断でIHCを過剰に実施すると、それに続く予測バイオマーカー検査用の材料が不足する可能性があります。特に分子検査(蛍光in situハイブリダイゼーションを除く)では、通常はIHCよりも多くの材料を必要とします。これは多くの癌専門医と患者にとって重大な問題です(2015年Cane氏他)。

今後、IHCにはどのような変化が求められるでしょうか?より多くのクローンやマーカーが利用可能になることは間違いありません。IHCの評価の多くは、定量的ではなく定性的ですが、デジタルパソロジーの登場によって、IHCマーカーの発現を簡単に定量化できるようになることも考えられます。例えば肺癌の診断では、Ki-67の評価でそうした技術が役に立つ可能性があります。ただし、使用するマーカーについてより正確かつ粒度の高い発現データが得られ、それが実際の診断に有効であることが、エビデンスで証明されなければなりません。これが実現した場合、次は標準化を進めて管理体制を整えることが、IHC技術にとってさらに重要になります。

問題は、マーカーや複雑な発現プロファイルの順列が増えても、利用可能な組織が少ないことです。急速な技術進歩によって、臨床現場での日常的な診断に、明視野検査と免疫蛍光検査の両方を用いたマルチプレックスIHC技術を利用できるようになりました。これは、限られた組織からより多くの情報を収集するための解決策となり得ます。これらの手法にデジタル技術を組み合わせると、これまでは生成が非常に難しかった共発現に関する空間データを取得できます。データポイント(マーカー)の増加に伴ってデータが複雑化し、検査結果の順列が増加すると、人工知能プラットフォームの役割が徐々に拡大する可能性があります。ただしその場合も、このアプローチを研究段階から一般診療に進めるには、臨床的価値を証明する必要があります。これらの追加データを活用する腫瘍学の進歩は、肺癌の検体を検査する技術や機能に追いついていないおそれがあります。研究と臨床現場とのつながりが非常に重要である理由がここにあります。おそらくマルチプレックスIHCの発展は、予測バイオマーカー検査でより高い価値を発揮するでしょう。これは複雑な免疫療法分野にも、依存性癌遺伝子によって活性化する細胞内での、非定型シグナル伝達経路と調節タンパク質の相互作用にも有益です。また、肺癌の診断や分類の初期段階よりも、特に腫瘍が標的療法への耐性を獲得した場合に有効と思われる。

ただし、肺癌の診断と分類においては、ゲノミクスおよびプロテオミクスの果たす役割が拡大していくでしょう。2015年のWHO分類では、扁平上皮性細胞と腺癌の基本定義において、IHCマーカー発現の取り扱いが大きく変更されました。こうした変更は、重要な肺癌の臨床サブグループとしてより多く特定され、分子レベルで定義されることが想定されます。しかし、IHCは最小限の組織材料を使用して、単一細胞における特定のマーカー発現を検出するという理由から、さらに、タンパク質は究極の癌遺伝子エフェクターであり治療標的であるという理由から、IHCは診断およびバイオマーカー検査の分野で引き続き重要な役割を果たすでしょう(2019年TsaoおよびYatabe氏)。したがって、IHCの機能構造や、アッセイの性能を低下させる要因を理解することが、より重要になってきます。

IHCは非常に有益かつ優秀な技術であり、これを正しく適切に活用すれば、肺癌やその他の胸部腫瘍の症例における診断精度は大幅に向上します。IHCは、治療法の選択に役立つという点で、生物学的に多様でしばしば致命的な疾患群の患者の利益になることが明確に証明されています。病理医だけでなく、肺癌とその治療に関心を持つすべての方の情報源として、本アトラスをお使いいただければ幸いです。肺癌診断用IHCを取り上げた今版は、International Association for the Study of Lung Cancer (IASLC)の診断アトラスシリーズに追加され、新版も今後発行される予定です。

## 参考文献

Cane P, Linklater KM, Nicholson AG, et al. Morphological and genetic classification of lung cancer: variation in practice and implications for tailored treatment. *Histopathology*. 2015;67(2):216-224.

Dabbs DJ, ed. *Diagnostic Immunohistochemistry: Theranostic and Genomic Applications*. 3rd ed. Saunders Elsevier; 2010.

Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL et al. Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for treatment with targeted

tyrosine kinase inhibitors: Guideline from the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *J Thorac Oncol*. 2018;13(3):323-358.

Tsao MS, Yatabe Y. Old soldiers never die: is there still a role for immunohistochemistry in the era of next-generation sequencing panel testing? *J Thorac Oncol*. 2019;14(12):2035-2038.





## 付録A：抗体リスト

抗体名	機能	動物種	クローン	アトラス参照ページ
アクチン、平滑筋	SMA ( $\alpha$ 平滑筋アクチン)	マウス	1A4	<a href="#">113</a> , <a href="#">120</a> ~ <a href="#">121</a> , <a href="#">134</a> ~ <a href="#">135</a> , <a href="#">139</a>
		マウス	ASM-1	
AE1/AE3	パンサイトケラチン	マウス	AE1/3	<a href="#">49</a> , <a href="#">67</a> ~ <a href="#">68</a> , <a href="#">71</a> ~ <a href="#">73</a> , <a href="#">79</a> , <a href="#">115</a> , <a href="#">118</a> , <a href="#">122</a> , <a href="#">125</a> , <a href="#">138</a> , <a href="#">159</a> ~ <a href="#">160</a> , <a href="#">162</a> , <a href="#">168</a> ~ <a href="#">169</a>
		マウス	AE1/AE3/PCK26	
ALK	未分化リンパ腫キナーゼの遺伝子産物、p80	マウス	ALK1	<a href="#">6</a> ~ <a href="#">8</a> , <a href="#">17</a> , <a href="#">25</a> , <a href="#">28</a> , <a href="#">39</a> ~ <a href="#">40</a> , <a href="#">62</a> , <a href="#">95</a> , <a href="#">98</a> ~ <a href="#">99</a> , <a href="#">133</a> ~ <a href="#">134</a> , <a href="#">176</a> ~ <a href="#">178</a> , <a href="#">181</a> , <a href="#">184</a>
		マウス	5A4	
		ウサギ	D5F3	
B72.3	TAG-72 (腫瘍関連糖たんぱく質72)	マウス	B72.3	<a href="#">157</a> , <a href="#">159</a>
BAP1	BRCA1関連タンパク質1。その産物がBRCA1 (1型乳癌感受性タンパク質) のRINGフィンガードメインを介してBRCA1に結合し、癌抑制因子として作用します。	マウス	C4	<a href="#">4</a> , <a href="#">162</a> ~ <a href="#">166</a>
Ber-EP4	Ep-CAM	マウス	Ber-EP4	<a href="#">157</a> , <a href="#">159</a>
34 $\beta$ E12	サイトケラチン。多くはサイトケラチン1、5、10、14 (高分子ケラチン) に反応します。	マウス	34 $\beta$ E12	<a href="#">68</a> ~ <a href="#">69</a> , <a href="#">71</a> , <a href="#">73</a>
		マウス	カクテル (34 $\beta$ E12+p63)	
BG8, Lewis y	Lewis y血液型抗原	マウス	F3	<a href="#">157</a>
CAM5.2	CK8, CK7 (反応の程度は低い)	マウス	CAM5.2	<a href="#">68</a> , <a href="#">72</a> , <a href="#">79</a> ~ <a href="#">80</a> , <a href="#">119</a> , <a href="#">159</a> , <a href="#">173</a>
		マウス	5D3	
カルレチニン	29kDのカルシウム結合タンパク。S-100タンパク質含むEF-ハンドタンパク質のファミリーに属します。	マウス	CAL6	<a href="#">4</a> , <a href="#">69</a> , <a href="#">136</a> , <a href="#">138</a> , <a href="#">157</a> ~ <a href="#">161</a>
		マウス	DAK-Calret 1	
		ウサギ	DC8	
		ウサギ	SP65	
カテニン	$\beta$ -カテニン	マウス	$\beta$ -カテニン-1	<a href="#">48</a> , <a href="#">109</a> ~ <a href="#">112</a>
		マウス	14	
		マウス	17C2	
	p120 カテニン	マウス	98	
		ウサギ	EP66	

抗体名	機能	動物種	クローン	アトラス参照ページ
CD5	胸腺細胞の表皮、T細胞、B細胞のサブセットで見られるI型膜貫通型糖タンパク質。T細胞増殖を調節する受容体として機能します。	マウス	4C7	<a href="#">69、169～170</a>
		ウサギ	SP19	
CD31 (PECAM-1)	血小板内皮細胞接着分子-1 (PECAM1)	マウス	JC70A	<a href="#">128～129、159</a>
		マウス	1A10	
CD34	幹細胞を骨髄細胞外マトリックスまたは間質細胞に接続する役割をします。	マウス	QBEnd 10	<a href="#">113、115、123、126、128～130、132、159</a>
		マウス	MY10	
CD45	白血球共通抗原	マウス	2B11+PD7/26	<a href="#">37、96</a>
		マウス	RP2/18	
CD56 (NCAM)	神経細胞接着分子1	マウス	123C3	<a href="#">37、75～78、80～82、92、130、136～137、139</a>
		ウサギ	MRQ-42	
		マウス	CD564	
CD99 (MIC2)	MIC2遺伝子産物、Ewing肉腫マーカー	マウス	12E7	<a href="#">115、136～137、167</a>
		マウス	O13	
		マウス	PCB1	
CD117 (KIT)	KITプロトオンコジーン、受容体型チロシンキナーゼ	マウス	EP10	<a href="#">120～121、169～171</a>
		ウサギ	ポリクローナル	
		ウサギ	9.7	
CDK4	サイクリン依存性キナーゼ4	マウス	DCS-31	<a href="#">134～135</a>
CDX2	尾状型ホメオボックス2	マウス	DAK-CDX2	<a href="#">104～105、107～110、114、144～146、154～157</a>
		ウサギ	EPR2764Y	
		ウサギ	EP25	
CEA	癌胎児性抗原	マウス	CEA31	<a href="#">157、159</a>
		マウス	COL-1	
		マウス	II-7	
		マウス	TF3H8-1	
クロモグラニンA	神経内分泌タンパク質のクロモグラニン/セクレトグラニンファミリーに属し、神経細胞および内分泌細胞の分泌小胞にみられます。	マウス	DAK-A3	<a href="#">36、76、111</a>
		マウス	LK2H10	
		マウス	5H7	
		ウサギ	EP1030Y	
CK5/6	サイトケラチン5/6	マウス	D5/16B4	<a href="#">36、41～42、45、51、64～65、69、71～73、114～115、119、156～157、161～162</a>
CK5/6/8/18	サイトケラチン、マルチ (5/6/8/18)、NCL-CK5/6/8/18、NCL-L-CK5/6/8/18、RTU-CK5/6/8/18	マウス	5D3/LP34	<a href="#">67～68、79</a>
CK7	サイトケラチン7	マウス	OV-TL12/30	<a href="#">45～47、51、67～73、79、103～105、107～110、114、119、144～146、149～152、154</a>
		マウス	RN7	
		ウサギ	SP52	
CK20	サイトケラチン20	マウス	Ks20.8	<a href="#">71～73、79、104～105、107～110、114、144～146、149～151</a>
		マウス	PW31	
		ウサギ	SP33	



抗体名	機能	動物種	クローン	アトラス参照ページ
CK OSCAR	広域サイトケラチン	マウス	OSCAR	<a href="#">67~68, 114, 117, 159, 173</a>
クローディン4	上皮細胞密着結合の構成要素である膜内性タンパク質	マウス	3E2C1	<a href="#">126, 157, 159</a>
デスミン	中間径フィラメント	マウス	D33	<a href="#">127, 134~135, 137~139, 159</a>
		マウス	DE-R-11	
D2-40	ポドブラニン (D2-40)	マウス	D2-40	<a href="#">157, 159~160, 166, 171</a>
EMA	上皮細胞膜抗原	マウス	E29	<a href="#">113~116, 120, 130</a>
		マウス	GP1.4	
ER	エストロゲン受容体	マウス	6F11	<a href="#">13, 28, 31, 108, 110~111, 146~147, 186</a>
		ウサギ	SP1	
	エストロゲン受容体 $\alpha$ 鎖	マウス	1D5	
		ウサギ	EP1	
	エストロゲン受容体 $\beta$ 鎖	マウス	PPG5/10	
GATA3	GATA結合タンパク質3	マウス	HG3-31	<a href="#">19, 108, 146~147, 149, 155~156, 160, 166</a>
		マウス	L50-823	
GCDFP15	総嚢胞性疾患流体タンパク質-15	マウス	23A3	<a href="#">155~156</a>
		ウサギ	EP1582Y	
グリピカン-3	細胞表面へパラン硫酸プロテオグリカンのメンバー	マウス	GC33, 1G12	<a href="#">110, 152, 170~172</a>
		マウス	IG12	
H3K27me3	ヒストンH3のリジン27トリメチル化	ウサギ	C36B11	<a href="#">135~136, 142</a>
HMB45	メラノーマ関連抗原	マウス	HMB45	<a href="#">139~140, 159</a>
		マウス	3種類のカクテル(HM-B45+A103+T311)	
HNF4 $\alpha$	肝細胞核因子4 $\alpha$	マウス	H1415	<a href="#">106, 145, 156</a>
		ウサギ	C11F12	
ISMN1	インスリノーマ関連タンパク質1	マウス	A-8	<a href="#">37~38, 75~77, 81, 136</a>
Ki-67	細胞増殖関連核タンパク質	マウス	MIB-1	<a href="#">5~6, 28, 37, 81, 85~89, 93, 114, 116, 190</a>
		マウス	MM1	
		マウス	K2	
		ウサギ	30-9	
KL1	パンサイトケラチン	マウス	KL1	<a href="#">67~68, 159</a>
Lu5	パンサイトケラチン	マウス	Lu5	<a href="#">68</a>
MDM2	核内局在E3ユビキチンリガーゼ。p53など癌抑制タンパク質を標的にして腫瘍形成を促進します。	マウス	IF2	<a href="#">134~136</a>
MNF116	CK5/6/8/17	マウス	MNF116	<a href="#">67~68, 72</a>
MOC31	Ep-CAM/上皮特異抗原	マウス	MOC31	<a href="#">157, 159</a>
MTAP	メチルチオアデニンホスホリラーゼ。p16ホモ接合性欠失のサロゲートマーカーとして使用されます。	マウス	2G4	<a href="#">163~166</a>

抗体名	機能	動物種	クローン	アトラス参照ページ
ナブシンA	アスパラギン酸プロテアーゼのペプチダーゼA1ファミリーのメンバー	マウス	MRQ-60	35~36, 40~41, 44~45, 50~51, 69, 92, 103, 105, 108, 110, 114, 118~119, 124, 144~147, 149~150, 153~154, 156~157
		マウス	IP64	
		ウサギ	ポリクローナル	
NKX3.1	NK3ホメオボックス1。前立腺組織の上皮細胞増殖を負に調節する因子として機能するホメオボックス含有転写因子をコードします。	ウサギ	EP356	151, 154~155, 157
NUT	精巣核タンパク質	ウサギ	C52B1	5, 7, 14, 46~47, 51, 63, 75, 82, 113~118, 122~124, 127
OCT3/4	POUクラス5ホメオボックス1。胚発生と多能性幹細胞に重要な役割を果たすPOUホメオドメインを持つ転写因子をコードします。	マウス	N1NK	170~171
p16	サイクリン依存性キナーゼ阻害因子2A, CDKN2A	マウス	E6H4	143~144, 163, 165~166
		マウス	G175-405	
		マウス	JC8	
p40	TP63遺伝子産物のアイソフォーム。△NP63とも呼ばれます。	マウス	BC28	2, 28, 35~38, 41~48, 50~51, 56, 60~65, 69~70, 74, 78, 80~81, 92, 105~106, 111, 114~117, 119~121, 130, 149, 152, 157, 159, 168~170
p63	TP63の産物	マウス	4A4	2, 28, 41~42, 45, 50~52, 60~65, 74, 80~81, 100, 114~115, 119~122, 149, 156~157, 168~169
		マウス	カクテル (34βE12+p63)	
		マウス	DAK-p63	
		マウス	7JUL	
PAX8	ペアードボックス8。甲状腺の発生を調節する転写因子です。	マウス	MRQ-50	108, 110~111, 148~150, 153~157, 168~169, 174
		マウス	PAXR1	
S100	カルシウム結合タンパク質	ウサギ	ポリクローナル	113, 120~122, 127, 135, 139, 159
SALL4	Spalt様転写因子4。外転神経運動ニューロンの発達に影響を与えるジンクフィンガー転写因子をコードします。	マウス	6E3	110~111, 126, 170~173
SMARCA4/BRG1	SWI/SNF関連、マトリックス関連、クロマチンのアクチン依存性調節因子、サブファミリーA、メンバー4。SWI/SNFファミリーのタンパク質のメンバーをコードします。	マウス	G-7	5, 7, 12, 51, 125~128
		ウサギ	EPNCIR111A	
SMARCB1 (BAF47, hSNF5, INI1)	SWI/SNF関連、マトリックス関連、クロマチンのアクチン依存性調節因子、サブファミリーB、メンバー1。抑制的クロマチン構造を緩和する複合体の構成分子です。	マウス	25/BAF47	126, 130~131
SOX10	SRY-box転写因子10。胚発生の調節と細胞運命の決定に関与する転写因子のSOX (SRY関連HMG-box) ファミリーのメンバーをコードします。	ウサギ	SP267	135, 146~147
		マウス	ポリクローナル	

抗体名	機能	動物種	クローン	アトラス参照ページ
STAT6	シグナル伝達兼転写活性化因子6。STAT転写因子ファミリーのメンバーをコードします。	ウサギ	ポリクローナル	<a href="#">130</a> ~ <a href="#">133</a> 、 <a href="#">159</a>
		ウサギ	ポリクローナル (SC-20)	
		ウサギ	YE361	
シナプトフィジン	脳内と内分泌細胞のシナプス小胞の内在性膜タンパク質	マウス	DAK-SYNAP	<a href="#">37</a> 、 <a href="#">40</a> 、 <a href="#">75</a> ~ <a href="#">81</a> 、 <a href="#">93</a> 、 <a href="#">109</a> ~ <a href="#">110</a> 、 <a href="#">130</a> ~ <a href="#">131</a> 、 <a href="#">136</a> ~ <a href="#">137</a> 、 <a href="#">139</a>
		マウス	27G12	
		ウサギ	MRQ-40	
		ウサギ	SP11	
TTF1	甲状腺転写因子-1。甲状腺とは肺の発生を調節する転写遺伝子で、NKX2-1とも呼ばれます。	マウス	8G7G3/1	<a href="#">2</a> 、 <a href="#">28</a> 、 <a href="#">34</a> ~ <a href="#">36</a> 、 <a href="#">38</a> ~ <a href="#">40</a> 、 <a href="#">43</a> ~ <a href="#">48</a> 、 <a href="#">50</a> ~ <a href="#">51</a> 、 <a href="#">53</a> ~ <a href="#">59</a> 、 <a href="#">62</a> 、 <a href="#">65</a> 、 <a href="#">69</a> ~ <a href="#">70</a> 、 <a href="#">72</a> 、 <a href="#">92</a> ~ <a href="#">93</a> 、 <a href="#">96</a> 、 <a href="#">103</a> ~ <a href="#">111</a> 、 <a href="#">113</a> ~ <a href="#">121</a> 、 <a href="#">127</a> 、 <a href="#">139</a> 、 <a href="#">144</a> ~ <a href="#">148</a> 、 <a href="#">150</a> ~ <a href="#">153</a> 、 <a href="#">158</a> ~ <a href="#">159</a> 、 <a href="#">178</a>
		マウス	SPT24	
		ウサギ	SP141	
WT1	ウィルムス腫瘍タンパク質	マウス	6F-H2	<a href="#">4</a> 、 <a href="#">69</a> 、 <a href="#">136</a> ~ <a href="#">138</a> 、 <a href="#">157</a> ~ <a href="#">160</a>
		マウス	WT49	





## 付録B：メーカー

---

本アトラスでは下記のメーカーとその製品について言及しています。多くのメーカーは記載した所在地以外にも、世界中に営業所があります。

### [Abcam](#)

英国、ケンブリッジ

### [Abnova](#)

台湾、台北

### [Active Motif](#)

米国、カリフォルニア州カールズバッド

### [Agilent Dakot](#)

米国、カリフォルニア州サンタクララ

### [BD Biosciences](#)

米国、カリフォルニア州サンノゼ

### [BioLegend](#)

米国、カリフォルニア州サンディエゴ

### [Cell Signaling Technology, Inc.](#)

米国、マサチューセッツ州ダンバース

### [Invitrogen - Thermo Fisher Scientific](#)

米国、カリフォルニア州カールズバッド

### [Leica Biosystems](#)

米国、イリノイ州バッファローグローブ

### [ニチレイバイオサイエンス](#)

東京

### [Roche Tissue Diagnostics](#)

米国、アリゾナ州ツーソン

### [Santa Cruz Biotechnology, Inc.](#)

米国、テキサス州ダラス

### [Sigma-Aldrich](#)

米国、ミズーリ州セントルイス

### [Signet Laboratories, Inc.](#)

米国、マサチューセッツ州デダム

