

病理診断・分子病理・病理情報学

共同編集責任者

真鍋俊明(米国病理医協会(CAP)監査官 一般社団法人PaLaNA Initiative代表理事)

長村義之(米国病理医協会(CAP)監査官 元日本病理学会理事長)

アポトーシス小体、陰窩の脱落、IHC染色は炎症性腸疾患患者へのサイトメガロウイルス感染の存在をどの程度示唆し得るか

Ono Y, Gonzalez RS. Am J Surg Pathol. 2023; 47(8): 933-941 (要約：日本版編集部)

炎症性腸疾患(IBD)に合併するサイトメガロウイルス腸炎の診断は容易ではない。

著者らは、IBDにおけるサイトメガロウイルス(CMV)感染の診断に役立つ組織学の手がかりや免疫組織化学(IHC)染色の活用法を明らかにするための研究を行った。2010~2021年に単施設で行われた大腸生検を、IBDの有無に関わらずCMV腸炎を発症した全患者集団とCMV IHC陰性のIBD患者集団に分けて再検討を行った。再生検では、活動性と慢性性(chronicity)の組織学的特徴、静脈炎、フィブリン血栓、小腸陰窩基底部でのアポトーシス小体、CMVウイルス細胞変性効果(CPE)、CMV IHC陽性の有無について評価された。各群間の所見を比較し、 $P < 0.05$ をもって統計学的有意差ありとした。

143症例(CMVのみ21例、CMVとIBDの合併44例、IBDのみ78例)から得られた251個の生検標本が検討対象となった。CMV+IBD群はIBDの

みの群よりもアポトーシス小体(83% vs. 64%, $P = 0.035$)および陰窩の脱落(75% vs. 55%, $P = 0.045$)が多く見られた。CMV+IBD群でHE染色によりCPEが見られなかった18例(41%)において、IHC染色によりCMVが検出された。同時に行われたすべての生検標本でIHC染色が実施された23例のCMV+IBD症例のうち22例では1枚以上の生検標本でIHC陽性であった。HE染色でCPEが見られなかったCMV+IBDの6例ではIHC染色が不明瞭であったが、うち5例ではCMV感染の証拠が認められた。

著者らは、CMV感染を伴うIBD患者では非感染者と比較してアポトーシス小体や陰窩の脱落を示す可能性が高いと結論づけた。IBD患者において、CMVのIHC染色が不明瞭であっても真の感染がある可能性があり、同時に採取された複数の標本を染色するとCMVの検出能を向上させることができる。

子宮頸部胃型腺癌におけるHER2の評価とその予後的意義

Wang S, et al. Mod Pathol. 2023; 36(6): 100148 (要約：日本版編集部)

最も一般的なHPV非依存性の子宮頸部腺癌(ECA)である子宮頸部胃型腺癌(GEAまたはGAS)は、子宮頸部腺癌全体の約10%を占める。

しかし、GEAを含むECAにおけるHER2の発現および増幅に関するデータは限られており、一貫性がない。これまでのデータにはかなりばらつき

があり、その原因として腫瘍型の選択、検査法、スコアリング基準の違いが考えられる。

著者らは、最終的にGEAに対して推奨できるHER2スコアリングを開発する基礎を得るために、GEAにおけるHER2過剰発現と増幅について系統的に調査した。また、HER2過剰発現および増幅

の予後予測的価値、ならびに他の既知の潜在的予後予測因子との関連についても検討した。

著者らは、IHCおよびFISHを用いてHER2の状態を解析する目的で58例のGEA症例を検討対象として選択した。HER2陽性(3+)の定義を「強い完全な側方あるいは側方・基底膜側の染色陽性反応がある腫瘍細胞が10%以上認められる」とした場合、GEAではHER2過剰発現(10/58例[17.2%])および増幅(9/58例[15.5%])が比較的高く、高いIHC-FISH一致率(9/10例[90%])が認められた。ほとんどのHER2陽性(3+)および未確定(2+)の腫瘍で、少なくとも局所的に側方・基

底膜側の陽性染色パターン(U字型)が観察された。HER2陽性症例および未確定症例においてHER2発現の著明な不均一性が確認された(それぞれ80%および83.3%)。HER2の過剰発現および増幅は無増悪生存期間の短縮と関連していた(それぞれ $P=0.047$ および 0.032)。PD-L1の発現もまた無増悪生存期間の短縮と関連していた($P=0.032$)が、変異型p53は予後予測的意義を示さなかった。

著者らは、今回の研究結果は、最終的にGEAの標準的なHER2検査ガイドラインを作成するための確かな土台になると結論づけた。

乳腺被包型乳頭癌には本来の基底膜があるか？

Ghannam SF, et al. Histopathology. 2023; 83(3): 376-393 (要約：日本版編集部)

被包型乳頭癌(encapsulated papillary carcinoma:EPC)は、肥厚した基底膜と考えられている厚い線維性カプセル様構造に囲まれている。

著者らは、EPCの被膜の幾何学的特徴を記述し、それが基底膜の拡張なのか間質の反応過程なのかについて検討を行った。

本研究では、正常および腫瘍性乳房組織100例を25例ずつ4群(EPCのほか、対照群として非浸潤性乳管癌(DCIS)、正常乳房組織、浸潤癌)に分けた。各症例の代表的スライド標本をピクロシリウスレッドで染色し、偏光顕微鏡で観察した。画像はImageJ、CT-FIRE、Curve Alignの画像解析プログラムを用いて解析した。

正常およびDCISの基底膜と比較して、EPCの被膜はコラーゲン線維の幅、直線性、密度が著明に増加した一方で、線維長は減少していた。EPCの被膜の線維はあまり整列しておらず、より垂直方向に配列していた。さらに、EPCの被膜は無秩序なI型コラーゲン(間質コラーゲン)線維に富ん

でいた。他の群と比較して、EPCの被膜はコラーゲン線維の厚さ、均一性、分布に大きなばらつきがあり、被膜内不均一性も顕著であった。浸潤癌群の基底膜様物質と比較すると、EPCの被膜はコラーゲン線維の密度が高く、線維が長く、直線的で、整列していたが、I型およびⅢ型コラーゲンの分布に差はなかった。EPCの被膜と甲状腺被包型乳頭癌(EPTC)の被膜の間には、EPCの被膜の線維がより直線的であったことを除き、差は認められなかった。正常な導管・小葉とDCISの基底膜の間でコラーゲン線維の密度、直線性、方向性、配列の違いは検出されたものの、いずれもEPCの被膜とは著明に異なっていた。

本研究は、EPCの被膜が正常組織や上皮内病変に特徴的な基底膜の肥厚ではなく、反応性のプロセスであるという証拠を提供した。また、被膜の特徴からEPCが低悪性度浸潤癌であることを示すさらなる証拠を与えるものである。

HER2の状態評価へのRNAをベースとしたアッセイの使用

Li X, et al. Mod Pathol. 2024; 37(2): 100408 (要約：日本版編集部)

ヒト上皮成長因子受容体(EGFR)2は、乳癌、消化器悪性腫瘍、その他の癌において重要なバイ

オマーカーである。HER2蛋白の発現はIHCで、それをエンコードする遺伝子であるERBB2のDNA

コピー数はFISHで評価可能である。

ほとんどの臨床現場では、IHC評価は陽性(3+)、保留[不確定](2+)、陰性(0~1+)に分類され、保留症例に対してはFISHが行われる。IHC 3+またはIHC 2+/FISH陽性と画定されたHER2陽性腫瘍患者は、長年にわたりHER2標的治療を受ける可能性がある。さらに最近、FDAはIHC 1+またはIHC 2+/FISH陰性の腫瘍と画定されるHER2低発現乳癌患者の治療薬として抗体薬物複合体トラスツズマブ デルクステカン(T-DXd)を承認した。この有望な治療法により、多くの患者が分子標的治療を受けられるようになった。しかし、IHCの結果は病理医の主観的なスコアリングに依存しているため、IHC 0とIHC 1+の症例を区別することは容易ではない。HER2の状態は従来、FISHによりDNAレベル、IHCにより蛋白レベルで評価されてきたが、mRNA発現レベルで評価することもできる。RNAscope(Advanced Cell Diagnostics

社)は、ホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)組織切片のWSI(バーチャル画像)を使ってHER2メッセンジャーRNAを定量的に評価する*in situ*ハイブリダイゼーションアッセイである。

著者らはRNAscopeとIHCを比較し、特に臨床検体においてRNAと蛋白質のレベルに強い相関があることを示した。また、RNAscopeの結果と患者のT-DXd治療に対する反応性との相関を評価した結果、T-DXd治療のノンレスポンドーよりもレスポンドーのHER2 RNAレベルが有意に高いことを見出した。さらに、RNAscopeスコアはIHCスコアよりも患者のT-DXd奏効率をよりよく選別した。

これらの知見は有望であるが、前向き臨床試験において、より大規模なコホートを用いた妥当性の確認が必要であると考えられる。いずれにしても、RNAscopeは乳癌におけるHER2発現を評価するためのIHCアッセイに代わる有望な方法にない得る。

子宮頸癌のFFPEサンプルにおけるAnyplex IIによるHPVジェノタイピングの性能評価

Haqshenas G, et al. Arch Pathol Lab Med. 2024; 148: 353-358 (要約：日本版編集部)

背景：ホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)組織切片におけるヒトパピローマウイルス(HPV)の検出は、病変の原因特定につながる可能性があり、新たな診断アッセイの開発や疫学研究にとって価値がある。Seegene社のAnyplex IIアッセイはHPVスクリーニングに広く使用されているが、FFPEサンプルを用いた場合の性能は十分に検討されていない。

目的：FFPEサンプルを用いてAnyplex II HPV HR Detectionの妥当性を確認する。

研究デザイン：FFPEサンプル用メーカー検証済みのRHAキットであるHPV SPF10-LiPA25, v1 (SPF10, Labo Biomedical Products) HPVジェノタイピングアッセイを用いてHPV陽性と判定された、2005~2015年に採取された子宮頸がんFFPEサンプル由来の保存DNA抽出物248サンプルを使用した。

結果：選択された248サンプルのうち243サン

プルが解析対象となった。SPF10によるジェノタイピングの結果と一致して、Anyplex IIは12種類の癌原性遺伝子型をすべて検出し、全体のHPV検出率は86.4%であった(210/243サンプル)。Anyplex IIとSPF10は、最も重要な2つの癌原性遺伝子型の検出で非常に高い一致を示した。一致率は、HPV 16で96.9%(219/226サンプル、95%信頼区間93.7-98.75)。HPV 18で97.8%(221/226サンプル、95%信頼区間94.9-99.3)であった。

結論：全体的にプラットフォーム間のHPVジェノタイピング結果は一致しており、FFPEサンプルを用いたAnyplex IIの妥当性が確認された。Anyplex IIアッセイは効率的なシングルウェル半定量PCRアッセイであり、簡便さを兼ね備えている。Anyplex IIのさらなる最適化は、検出限界を改善することによりFFPEサンプルを使用した場合の性能を向上させる可能性がある。

重症の塵肺罹患鉱山労働者における 定量的顕微鏡を用いた肺の塵埃の評価

Hua JT, et al. Arch Pathol Lab Med. 2024;148:327-335 (要約：日本版編集部)

背景： 肺内に残留する塵埃を、現行の病理医による定性的評価法やエネルギー分散型分光法を用いた走査型電子顕微鏡(SEM/EDS)によってその原因物質を評価するには限界がある。

目的： 進行性塊状線維症(progressive massive fibrosis: PMF)を患う米国の炭鉱労働者において肺組織内の塵埃の特徴を評価するために、定量的顕微鏡-粒子状物質(QM-PM)と呼ばれる画像処理ソフトウェアと組み合わせた偏光顕微鏡を使用し、その有用性を検討する。

研究デザイン： 著者らは、複屈折性結晶質シリカ/ケイ酸塩粒子(鉱物密度)と炭素質粒子(色素分画)の生体内への堆積量を評価するために、顕微鏡画像を用いた標準化プロトコルを開発した。鉱物密度と色素分画は、病理医の定性的評価およびSEM/EDS分析結果と比較した。また粒子の特徴は、採掘技術の変化に伴い異なる曝露を受けたと考えられる1930年以前に生まれた過去の鉱山労働者と現代の鉱山労働者との間で比較された。

結果： 鉱山労働者85人(過去62人、現代23人)と健常対照者10人の肺組織サンプルをQM-PMを用いて分析した。QM-PMによる鉱物密度および色素分画の測定値は、病理医によるコンセンサス・スコアリングおよびSEM/EDS分析の結果と同等であった。現代の鉱山労働者($186,456/\text{mm}^3$)は、過去の鉱山労働者($63,727/\text{mm}^3$, $P=0.02$)および健常対照者($4,542/\text{mm}^3$)よりも鉱物密度が高く、シリカ/ケイ酸塩粒子の量が多いことと一致していた。現代の鉱山労働者と過去の鉱山労働者の粒子径(面積の中央値: 1.00 対 $1.14 \mu\text{m}^2$; $P=0.46$)および偏光下での複屈折(グレースケールの明るさの中央値: 80.9 対 87.6 ; $P=0.29$)は同等であった。

結論： QM-PMは、再現性、自動化、アクセス性、時間/コスト/労働生産性の高い方法でシリカ/ケイ酸塩および炭素質粒子の特徴について確実に*in situ*評価し、また職業性肺病理を理解し、粉塵暴露量の上限を定めるためのツールとして有望である。

米国病理研修医の乳腺病理に対する意識：全国調査

Harper EM, et al. Arch Pathol Lab Med. 2024; 148: 371-376 (要約：日本版編集部)

背景： 乳腺の病理診断は観察者間でばらつきがあると考えられており、病理医に対する十分なトレーニングの必要性が強調されている。しかし、研修医における乳腺病理のトレーニングの実態についてはよく知られていない。

目的： 米国の研修医における乳腺病理のトレーニングの特徴を評価する。

研究デザイン： 電子メールで全米病理学研修プログラムのプログラム責任者に、病理研修医に調査票のリンクを転送するよう依頼する方法で、クアルトリクス(Qualtrics)社主導のオンライン調査を行った。

結果： 研修医117人からの回答が評価可能で

あった。ほとんどの回答(92/117人、79%)は、大学病院が実施しているプログラムに所属する研修医からのものであった。35人(30%)の回答者は、そのプログラムで乳腺病理専用のローテーションを組んでいた。ほとんどの回答者は、乳腺病理はトレーニングとして重要な部門であり(96/100人; 96%)、また病理を実践(開業)する上でも重要な領域の一つである(95/100人; 95%)と考えていた。また回答者の多くは、乳腺病理のトレーニングは全体として適切であったと考えていた(71/100人、71%)。一方で回答者の41%が、乳腺病理を将来の専門分野の一つにはしたくないと回答した。その主な理由は、「他に興

味のある分野がある」、「乳腺病理に興味がない」、「乳腺病理は報告書の作成に時間がかかる」などであった。

結論： 本調査結果から、米国では多くの病理学研修プログラムで乳腺病理専門のローテーションは提供されていないが、乳腺の病理診断はサブスペシャリストまたは経験豊富な乳腺病理医に

よって行われていることが示された。加えて、多くの回答者は、十分なトレーニングを受けており、将来的に独立して乳腺の病理診断を実施できる能力があると信じていた。新人病理医における乳腺病理の習熟度に関する追加研究は、米国における乳腺病理トレーニングの質のさらなる解明に役立つと考えられる。

リアルタイム遠隔病理診断は施設内で自ら行う術中迅速診断と同程度に実施可能である

Rohr JM, et al. Arch Pathol Lab Med. 2024; 148: 68-73 (要約：日本版編集部)

背景： 凍結切片による術中迅速診断は外科病理診断における最も重要な仕事のひとつで、外科術者側に迅速に対応する。高精度な現代的方法ではあるものの、適切なターンアラウンドタイム(所要時間:TAT)で術中迅速診断を受けようとすることは、小規模または遠隔地の医療機関にとって、コストと患者ケアの面で利用し難いものになる。遠隔病理診断(テレパソロジー)は、一般病理医も特殊専門病理医もない施設が、エキスパート病理医による病理学的コンサルテーションを即座に受けられるようにする手段を与える。

目的： 凍結切片を用いたリアルタイム遠隔病理診断の有用性を評価する。

(訳者注:この仕組みはWSIではなく、動画像遠隔病理診断に相当すると思われる)

研究デザイン： 3つのサテライト病院を有する三次医療センター2施設で行われた遠隔顕微鏡による凍結切片の病理診断について、解剖学的部位、凍結包埋ブロック1個ごとのTAT、担当病理医、パラフィン包埋切片による病理診断との一致率を調査した。TATと一致率は同時期に行われたガラススライドに基づく病理診断と比較した。

結果： 遠隔顕微鏡により行われた748例の術中迅速診断について、694例のTATは平均18分56秒±8分45秒であり、スライドガラスによる病理診断(14分25秒±7分8秒、 $P<0.001$)よりも遅かった。22例(2.89%)が不一致であったが、これはスライドガラスによる病理診断の実施割合($P=0.44$)やカテゴリー分布($P=0.31$)と有意差はなかった。2例(0.27%)に技術的不備があった。

結論： 統計的には施設内での術中迅速診断の方が速かったが、遠隔顕微鏡による病理診断でも大部分は20分以内に結果が報告された。このことは、多数の病理医、病理助手および／または検査技師、施設の違いによって、検討された6年間を通して変わらなかった。診断の不一致が数人の病理医に集中していたことは、遠隔病理診断や凍結切片による病理診断の習熟度に個人差があることを示唆している。技術的な問題で遠隔病理診断が妨げられることが稀にあった。全体として本研究の結果は、術中迅速診断における遠隔顕微鏡サービスの継続的使用と拡大を正当化するものである。

乳頭状汗管嚢胞腺癌の分子プロファイリングにより明らかとなったRAS活性化変異

Cornejo KM, et al. Arch Pathol Lab Med. 2024;148:215-222 (要約：日本版編集部)

背景： 乳頭状汗管嚢胞腺癌(syringocystadenocarcinoma papilliferum:SCACP)は稀な付属

器癌であり、一般に頭頸部に発生し、脂腺母斑と関連して発生することがある乳頭状汗管嚢胞腺

腫(syringocystadenoma papilliferum:SCAP)に対応する悪性腫瘍である。RAS変異はSCAPと脂腺母斑の両方で検出されている。

目的: これまでに検討されていないSCACPの臨床病理学および分子生物学的特徴を評価する。

研究デザイン: 6施設から得られた11人のSCACP症例を対象に臨床病理学の特徴を検討した。また、次世代シーケンシング(NGS)を用いた分子プロファイリングを行った。

結果: 検討集団は女性6人、男性5人で構成され、年齢は29歳から96歳(平均73.6歳)であった。腫瘍は頭頸部(8例、73%)と四肢(3例、27%)に発生していた。3例の腫瘍は脂腺母斑から発生した可能性があった。合計4例が少なくとも

上皮内癌(腺癌3例、有棘細胞癌1例)を認め、7例が浸潤癌であった(有棘細胞癌5例、腺癌および有棘細胞癌の混合2例)。11例中8例(73%)にHRAS(n=4)、KRAS(n=1)、BRAF(n=1)、TP53(n=4)、ATM(n=2)、FLT3(n=1)、CDKN2A(n=1)、PTEN(n=1)のホットスポット変異が認められた。HRAS変異を有する4例はすべて頭頸部に発生したが、KRAS変異は四肢に発生した。

結論: RAS活性化変異は検討した症例の50%に検出され、その大部分(80%)はHRASが関与し、SCAPの好発部位である頭頸部に発生したことから、このサブセットは悪性転化の結果として生じる可能性があり、早期の発癌イベントであることが示唆された。

アポクリン化生を伴う浸潤性乳癌におけるTRPS1およびGATA3の発現

Wan J, et al. Arch Pathol Lab Med. 2024; 148: 200-205 (要約: 日本版編集部)

背景: 最近同定された免疫組織化学的マーカーTRPS1は、浸潤性乳癌、特にトリプルネガティブ乳癌に対して高い感度と特異度を有する。しかし、乳癌の特殊な組織型におけるTRPS1の発現は不明である。

目的: アポクリン化生を伴う浸潤性乳癌におけるTRPS1の発現について調べ、GATA3の発現と比較検討する。

研究デザイン: トリプルネガティブ乳癌41例、エストロゲン受容体(ER)/プロゲステロン受容体(PR)陰性かつHER2陽性乳癌11例からなるアポクリン化生を伴う浸潤性乳癌52例と、アポクリン化生のないトリプルネガティブ乳癌11例について、免疫組織化学染色によりTRPS1およびGATA3の発現を評価した。すべての腫瘍はアンドロゲン受容体(AR)に対してびまん性に陽性(90%以上)であった。

結果: アポクリン化生を伴うトリプルネガティブ乳癌ではTRPS1発現陽性は12%(5/41例)であったが、GATA3は全例陽性であった。同様に、アポクリン化生を伴うER/PR陰性HER2陽性の浸潤性乳癌では、TRPS1陽性は18%(11例中2例)であったが、GATA3は全例陽性であった。一方、アポクリン化生のないAR発現強陽性のトリプルネガティブ乳癌では、TRPS1とGATA3の両方が100%(11/11例)に発現した。

結論: アポクリン化生を伴うER陰性/PR陰性/AR陽性浸潤性乳癌の多くは、HER2の状態に関係なくTRPS1陰性でGATA3陽性である。したがって、TRPS1陰性はアポクリン化生を伴う腫瘍において乳房由来を除外しない。TRPS1およびGATA3の免疫染色パネルは、このような腫瘍の組織由来が臨床所見と関連する場合に有用である。

“病理診断・分子病理”セクションでは、CAP Todayの記事の抜粋、Anatomic pathology Pathology informatics Molecular pathologyに関する論文の抄録、CAP機関誌Archives of Pathology and Laboratory Medicineの抄録を中心にCAPから発信される情報をUpdateして掲載することとしました。日常の病理診断業務などに活用していただければ幸いです。また本稿執筆・掲載にあたって申告・開示すべきCOIはありません。(真鍋俊明、長村義之)