

個別化医療に向けた病理分野における分子病理診断解析への応用

郡 司 昌 治 (名古屋第一赤十字病院 細胞診分子病理診断部 分子病理検査係長)

分子標的薬剤の登場により個別医療に対する分子生物学的解析が必須となった。この分野への分子生物学的解析の臨床応用は2000年に乳癌の分子標的薬剤(Trastuzumab)が本邦に導入されたのを機に、HER2-FISH解析が体外診断薬として初めて認可された。現在は胃癌にも適応範囲が広がり。薬剤投与の判断に重要な検査となっている。現在では分子標的薬剤の感受性評価は肺癌のEGFR(Gefitinib、Erlotinib、Afatinib)、ALK(Crizotinib、Alectinib)大腸癌のKras(Cetuximab)、慢性骨髄性白血病のBCR/ABL(Imatinib、Dasatinib、Nilotinib)で用いられている。また分子生物学的解析は病理細胞診断、Grade分類の鑑別補助的診断に用いられており、軟部腫瘍、中皮腫、脳腫瘍などに応用されている。

この検査を院内に導入を行うかは議論がある。しかし院内導入のメリットには以下の4つが挙げられる。

①診断、治療方針の早期決定

外部委託検査では検査センターへの輸送等によるタイムロスなどで報告に時間が要することは避けられない。しかし院内化をすることにより検査依頼から報告までの時間が短縮され、診断、治療方針の早期決定が可能となる。したがって在院日数の短縮や的確な治療を行うことによりDPCなどの経済メリットにも寄与すると考える。

②腫瘍細胞のDriver mutationを検索することにより鑑別補助診断への応用

軟部腫瘍、中皮腫、リンパ腫などの鑑別補助診断にドライバー遺伝子を検索することにより、診断により有用な情報を得ることができる。

③検体の精度管理

院内検査を行うことにより、いろいろな解析経験を積むことができ、精度の向上に寄与すると考える。病理材料は血液などの新鮮材料とは異なり、ホルマリンやアルコール固定された検体を用いる。固定状態によりDNAの断片化などが起こるため、材料の適否を把握する必要がある。また手術材料、生検、細胞診など患者ごとに腫瘍分布が異なるため、最適な材料を選ぶ必要がある。

④細胞形態と遺伝子異常の対比が可能

細胞形態を把握して検査を行うことにより、細胞形態と遺伝子異常の対比が可能となる。

院内導入の最大のメリットは精度管理ができるという点である。病理細胞診材料を用いたEGFR、KrasのPCR解析の検査感度は1~5%である。手術材料は腫瘍成分が多く、検査精度はあまり問題とはならない。しかし生検材料や細胞診材料は時に問題となる。悪性腫瘍と診断された標本はすべて解析に適した標本ではない。腫瘍細胞が少なく、正常細胞や炎症性細胞が非常に多く認められた場合に問題となる。1個の腫瘍細胞は1DNAである。しかし好中球、リンパ球、正常上皮細胞1個も1DNAである。したがって腫瘍細胞以外の細胞が多く存在すると腫瘍細胞のDNA濃度が低下し、検出感度が低下する問題が生じる。PCR解析は機器の性能、プライマー、プローブに注目されるが、解析に用いる病理細胞診材料の適否の判断が重要である。非常に腫瘍細胞の比率が少ない場合は材料として適さない。また不適材料で検査した場合は誤判定となる場合があるので注意が要する。

上記のPCR解析も同様であるが、分子生物学的解析は形態を理解していなければ精度の高い検査は行うことはできない。組織切片は連続切片で、腫瘍分布や細胞形態が把握できる。しかし細胞診材料は標本ごとに腫瘍分布が異なり、未染標本や気管支洗浄液などの液体材料から直接解析することは問題がある。FISH解析を例に挙げるとDAPIで染色された核所見のみでは正常細胞、腫瘍細胞の鑑別困難である。形態を把握するにはPapanicolaou染色、May-Grunwald Giemsa染色標本からの解析が必要となる。染色標本からのFISH解析は未染標本では把握できない腫瘍分布や細胞形態が把握でき、非常に有用な解析手法である。

最後に分子標的薬剤の進歩および腫瘍関連遺伝子の解明により今後、固形腫瘍、造血器腫瘍の分子生物学的解析への応用が期待できる。院内化により結果の迅速化は可能である。分子標的薬剤の選択的診断、より正確な病理細胞診断、悪性度、予後など付加価値的な診断が可能となる。