

体外診断用医薬品

ベンタナ OptiView CINtec p16 (E6H4) 判定ガイド



目次

はじめに	3
使用目的	4
判定ガイドの目的	4
p16染色パターン	5
CINtec p16 陽性	5
CINtec p16 陰性	6
対照の使用—陰性対照試薬および対照組織	8
陰性対照試薬	8
陽性および陰性の対照組織	8
検査フロー	9
CINtec p16の判定基準—重要な基準	10
解釈には考慮に入れないCINtec p16染色	12
間質細胞の染色	12
子宮頸管内の細胞の染色	13
バックグラウンド染色	13
参考症例	14
炎症	14
扁平上皮化生	14
コンジローマ	15
CIN1	16
CIN2	18
CIN3	18
CINtec p16によって浮かび上がった小病変	19
参考文献	22

はじめに

ベンタナ OptiView CINtec p16 (E6H4) の抗p16^{INK4a} (クローンE6H4) 抗体は、ヒト細胞内のp16^{INK4a} (p16) タンパクに結合します。p16は、サイクリン依存性キナーゼインヒビターとして細胞周期制御および細胞分化において重要な役割を担っています¹⁻⁴。p16タンパクは、網膜芽細胞腫タンパクを介したG1-S期の移行を調節し、細胞分化の過程で細胞周期停止の引き金となります^{1,5}。正常に最終分化した細胞では、p16は、通常は免疫組織化学染色 (IHC) によって検出することのできないほど低レベルで発現しています^{1,6}。前癌病変および癌組織にみられるp16の強い過剰発現はヒトパピローマウイルス (HPV) E7タンパクの発現と密接に関連していることが確認されています^{1,3,7,8}。

IHCによってp16タンパクの過剰発現を検出することは、子宮頸部組織診断の一助となります。p16タンパクは子宮頸部扁平上皮の腫瘍性病変に過剰発現することが報告されている一方、正常な上皮や非腫瘍性病変にはほとんどみられないことが確認されています^{1,2,5,8}。多くの研究により、p16の過剰発現と子宮頸部上皮内腫瘍 (CIN) の存在の関係が報告されてきました^{9,10}。ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色標本では、CIN3病変のほぼ全て、CIN2病変の大部分、さらに、CIN1と分類される子宮頸部扁平上皮病変の40%~60%にp16タンパクの過剰発現が通常観察されています⁹⁻¹³。

子宮頸部組織の診断で治療方針が決まります。CIN1はHPV感染した状態で、CIN1と診断された患者には1年後のフォローアップが推奨されます¹⁴。子宮頸部の疾患では、CIN2からが治療の対象となります¹⁴。CIN2またはCIN3と診断された患者には切除や焼灼が推奨されます。妊娠性のある女性が切除するリスクとしては、将来妊娠した際に有害なリスクを伴うことがあります¹⁵⁻¹⁷。そのため、患者をマネージメントする際にはCIN、特にCIN2およびCIN3の正確な診断が重要になります¹⁸。

HE染色単独による子宮頸部組織の形態学的評価には観察者間のバラつきがあります¹⁸⁻²⁴。子宮頸部組織診断にp16 IHCの解釈を補助的に使用した際の病理医の観察者間の影響について研究した、いくつかの報告があります。研究のいずれも、HE染色標本と併せてp16染色標本を解釈した場合には、HE染色標本単独の評価と比較して、病理医の間の診断一致度が改善しています^{11,12,21,25-27}。

さらにHE染色標本とp16染色標本を併用した場合に、子宮頸部組織診断の診断精度への影響を評価した報告があります。Dijkstraら (2010) は、p16 IHC染色標本の解釈を併せて診断を行った一人の病理医による評価が、婦人科専門病理医らがHE染色標本のみで下した確定診断に、ほぼ完全に一致することを明らかにしました¹¹。Bergeronら (2010) は、p16染色標本とHE染色標本の両者を併せて評価した場合、HE染色標本のみで評価した場合と比して診断精度が有意に向上する (P=0.0004) ことを報告しており、CIN2以上を検出する感度が77%から87%に上昇しました¹²。米国で子宮頸部生検を1,450例以上評価した前向き集団ベースの研究から、p16 IHC染色は「CIN2以上の病変の有無を確認する有用かつ信頼のおける診断の補助手段である」¹³と確認されています。このように、子宮頸部組織切片のHE染色標本の所見に基づき、連続切片で作製したp16 IHC染色標本の解釈を併せることは、子宮頸部組織生検の診断一致率を大きく改善する可能性があります。

2012年、米国病理学会 (CAP) と米国コルポスコピー子宮頸部病理学会 (ASCCP) はLower Anogenital Squamous Terminology (LAST) ガイドラインを発表しました²⁸。LASTガイドラインは、子宮頸部 (と他の下部肛門生殖器) の扁平上皮組織におけるHPV関連前癌病変の検出を改善するため、HE染色と併せたp16 IHC染色の臨床使用に関するガイダンスです。p16 IHC染色は以下のいずれかの場合に推奨されます。

- 1) HE染色標本による形態学的な評価がHSIL (CIN2あるいはCIN3) に類似する変化。
- 2) HE染色標本による形態学的な評価においてHSIL (CIN2) が疑われる。
- 3) 病理医間の組織学的診断が一致しない場合、特に、鑑別診断にCIN2またはCIN3の前癌病変が含まれる場合。2014年、世界保健機関 (WHO) はLASTガイドラインを採択しました。子宮頸部組織診断においてp16 IHC染色を診断の補助に用いることは、今や世界的に推奨される標準的な手段です²⁹。
- 4) HE染色標本による評価がLSIL (CIN1) 以下だが、細胞診判定が以下の場合。HSIL (高度扁平上皮内病変) やASC-H (高度扁平上皮内病変の可能性が否定できない異型扁平上皮細胞)、ASC-US / HPV16+ (意義不明異型扁平上皮細胞/ HPV16+)、AGC- (NOS) (特定不能な異型腺細胞)。

使用目的

■製品の使用目的

ベンタナ OptiView CINtec p16 (E6H4) (体外診断用医薬品製造販売承認番号：30600EZ00017000) (以降「CINtec p16」と表記) は、ベンタナ ベンチマークシリーズ(ロシュ社製自動染色装置*)を用いてベンタナOptiView DABユニバーサルキットをキットと組み合わせて使用する必要があり、ホルマリン固定パラフィン包埋された生体由来の組織中に含まれるp16タンパクの検出(子宮頸部上皮内腫瘍(CIN)の診断補助)を目的としています。

子宮頸部上皮内腫瘍(CIN)の診断の一致率を改善するため、HE染色標本による病理診断を補助する目的として適応されています。CIN病変の有無やグレードは、HE染色スライドとその他の臨床情報や臨床検査情報に基づいて診断してください。

*適応機種

ベンタナ ベンチマーク GX (医療機器：13B1X00201000053)

ベンタナ XT システム ベンチマーク XT (製造販売終了)

ベンタナ ベンチマーク ULTRA (医療機器：13B1X00201000050)

ベンチマーク ULTRA PLUS (医療機器：13B1X00201000088)

■判定ガイドの目的

本ガイドは以下を目的としています。

- 形態学的なHE染色標本による評価に、ホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)子宮頸部切片をCINtec p16で染色した際のp16タンパク発現の解釈を加え、評価する判定基準および様々な症例の提示を目的としています。

■染色条件

染色操作	染色プロトコール		
	ベンチマークGX	ベンチマークXT	ベンチマークULTRA 又はULTRA PLUS
Deparaffinization (脱パラフィン)	Selected	Selected	Selected
Cell Conditioning (熱処理)	CC1, 32min	CC1, 48min	ULTRA CC1, 48min/100°C
Pre-Peroxidase Inhibitor (ペルオキシダーゼインヒビター前処理)	Selected	Selected	Selected
Antibody (一次抗体)	37°C/8min	37°C/8min	36°C/12min
Post-Fixative ^{**} (ブロッキング)	8min	n/a	n/a
Counterstain (核染色)	Hematoxylin II - 4min		
Post Counterstain (色出し)	Bluing Reagent - 4min		

※抗体希釈液を用いたブロッキング

p16の染色パターン

CINtec p16は、ホルマリン固定パラフィン包埋された生体由来の組織中に含まれるp16タンパクの検出(子宮頸部上皮内腫瘍(CIN)の診断補助)を目的としています。CINtec p16は定性的な検査であり、子宮頸部扁平上皮のp16染色パターンに基づいて陽性または陰性として判断されます。CINtec p16陽性とは、びまん性のp16染色像を示しています。CINtec p16陰性とは、「限局性のp16染色」または、「p16染色なし」を示しています。以下のセクションでは、子宮頸部扁平上皮内のCINtec p16の染色パターンの解釈を詳しく説明します。

■CINtec p16陽性

CINtec p16陽性とは、子宮頸部扁平上皮の基底細胞層および傍基底細胞層の細胞から連続的なびまん性の染色と定義され、中層細胞層または中層～表層細胞層の染色の有無は問いません(以降「びまん性の染色」と表記)。p16の染色強度は検体によって変動する可能性があります。染色強度は問わずp16に特異的なびまん性の免疫染色はCINtec p16陽性とみなします。CINtec p16の局在は、核または細胞質(または両者)と考えられます。

図1に示すように、びまん性のp16染色は基底細胞層および傍基底細胞層に連続的な染色から始まり、上皮の全層に及ぶこともあれば(下側1/3、下側1/2、2/3)に及ぶこともあります。

陽性

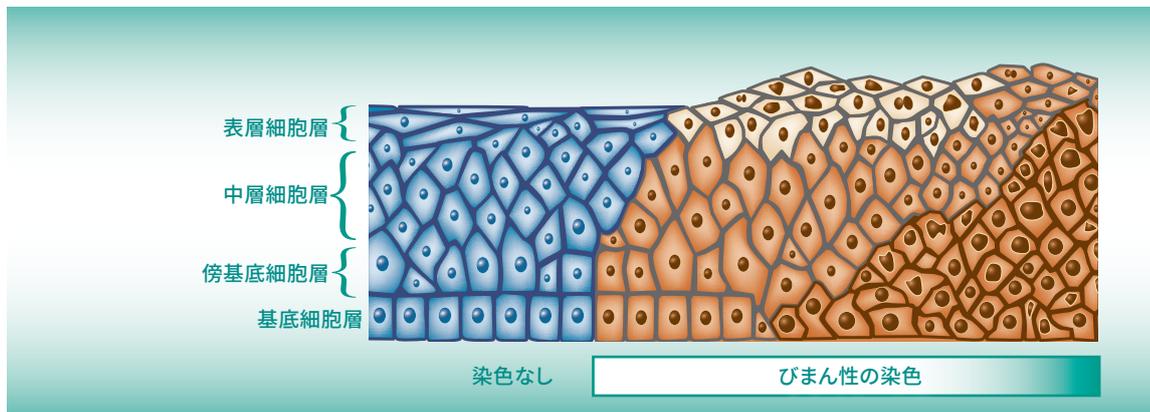


図1.CINtec p16染色模式図: びまん性のp16染色(CINtec p16陽性)。

以下のCIN病変の画像(図2)に示すように、びまん性の染色は、中層細胞層または中層～表層細胞層への染色の有無を問わず、基底細胞層および傍基底細胞層からの連続的な染色パターンを呈します。

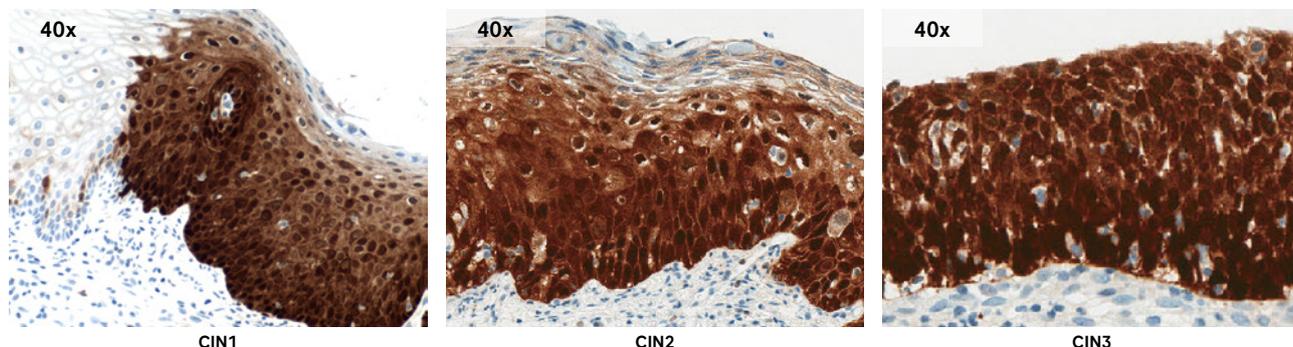


図2. CINtec p16 陽性：びまん性のp16染色を呈するCINtec p16陽性例。各症例の最終的なCINの診断は各々のHE染色スライド(ここには掲載していない)に基づく。

注 p16染色の強度やびまん性のp16染色パターンの有無によってCIN病変のグレードを評価することはできない。子宮頸部上皮への染色の割合(基底細胞層～全層の染色)はCINグレードとは相関しない。高度CIN病変の大部分は、びまん性のp16染色パターンを呈し、CIN1の40-60%にびまん性のp16陽性像を呈すると想定される。びまん性の染色はCINの存在を示唆する。p16染色を踏まえた最終的なCINの分類は、HE染色標本による形態学的な評価に基づく必要がある。

■CINtec p16 陰性

CINtec p16 陰性とは、子宮頸部扁平上皮に限局性のp16染色(図3および図4に示すような「限局性のp16染色」)、または、子宮頸部扁平上皮にp16染色なし(図3および図5に示すような「p16染色なし」と定義されます。限局性のp16染色とは、孤立した細胞や小さな細胞集塊への染色と定義されます。すなわち、特に基底細胞および傍基底細胞のものではない、非連続的な染色パターンです。図3の左側は典型的なCINtec p16 陰性像を示します。少数のp16陽性細胞が上皮の至る所に散在しており、上皮細胞に連続的な染色は認められず、特に基底/傍基底細胞層に陽性細胞を認めません。

陰性

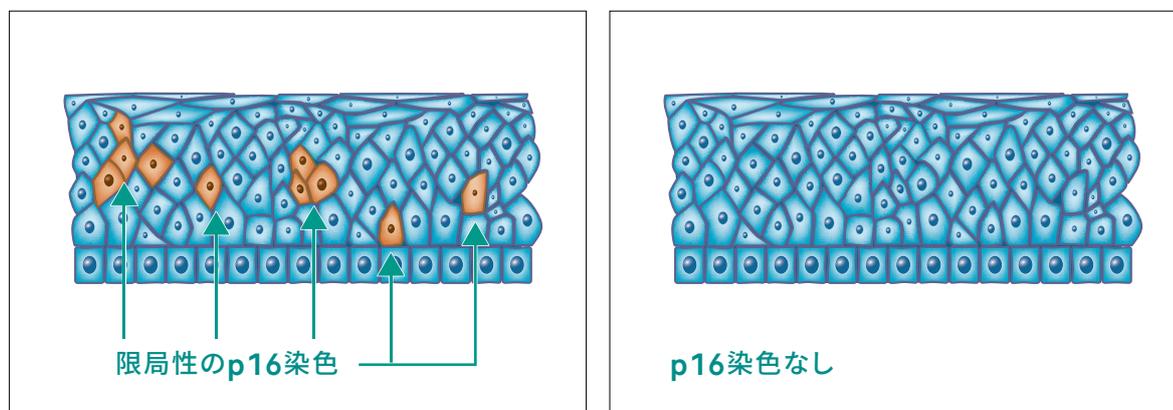
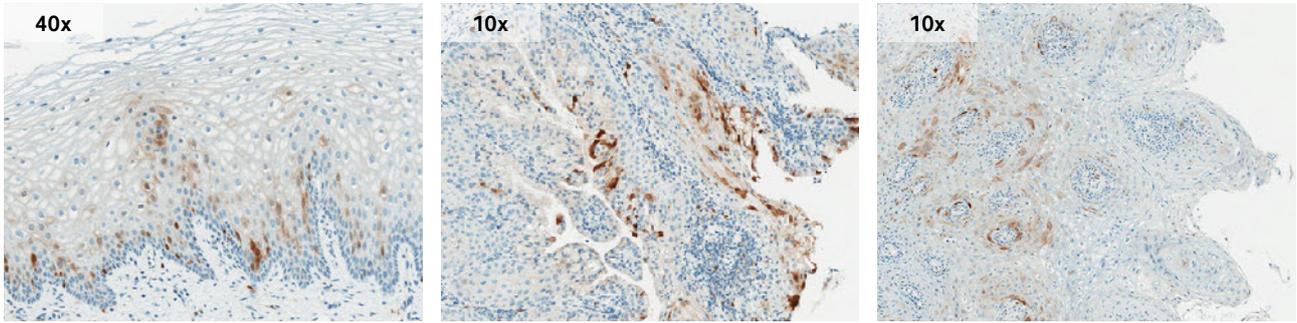


図3.CINtec p16染色模式図：限局性のp16染色、p16染色なし。いずれのp16染色も典型的なCINtec p16陰性パターンである。

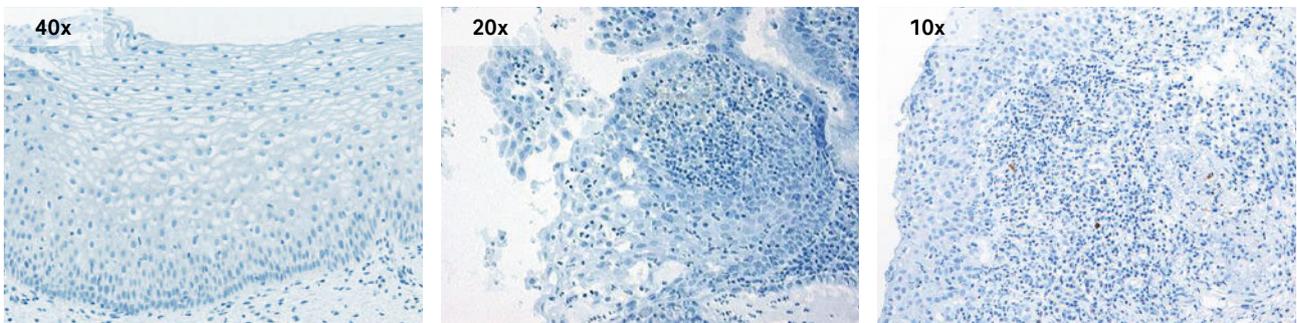


正常な扁平上皮

扁平上皮化生

尖圭コンジローマ

図4. CINtec p16 陰性：単一細胞のほか、小さな細胞集塊に限局的p16染色を呈するCINtec p16陰性例。各症例の最終診断は各々のHE染色スライド(ここには掲載していない)に基づく。



正常な扁平上皮

扁平上皮化生

子宮頸管炎

図5. CINtec p16 陰性：提示した画像は、正常な子宮頸部上皮、扁平上皮化生、子宮頸管炎であり、いずれも子宮頸部上皮内にp16の染色を認めない、CINtec p16陰性例。最終診断は各々のHE染色標本(ここには掲載していない)に基づく。

対照の使用—陰性対照試薬および対照組織

■陰性対照試薬

陰性対照試薬は、CINtec p16スライドとの連続切片（患者組織検体）を用いて、染色することを強く推奨しています。陰性対照試薬に使用する染色プロトコールはCINtec p16のものと同じでなければなりません。

陰性試薬対照染色スライドで観察された染色をCINtec p16染色スライドと比較してください。壊死した細胞や変性した細胞は非特異的な染色をすることが多いため、陰性対照試薬の染色結果の解釈は、形態が維持されている細胞で行う必要があります。陰性対照試薬では、大部分の症例はバックグラウンド染色がまったく〜ほとんど認めません。CINtec p16染色スライドと陰性対照試薬染色スライドに同じような染色が認められる場合、その染色はp16に特異的であるとみなしません。

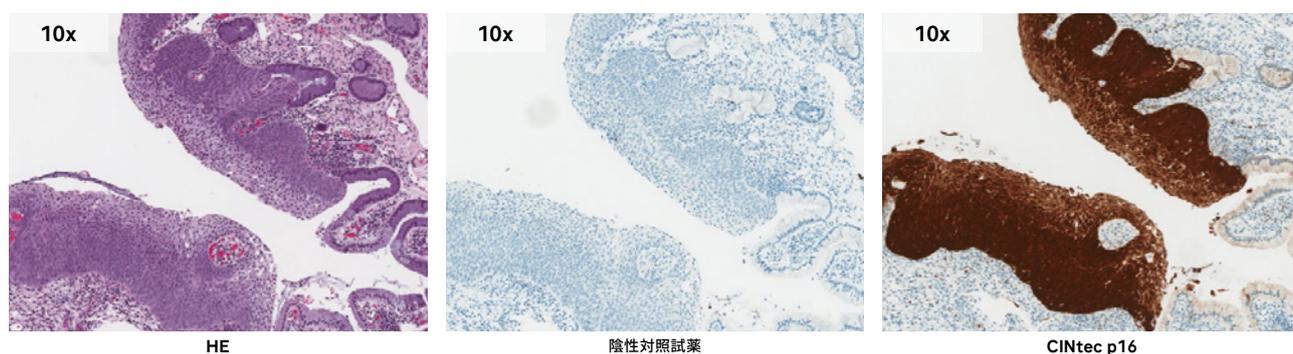


図14. 陰性対照試薬（中）が適切に染色された高度CIN病変症例

■陽性および陰性の対照組織

CINtec p16の染色時には、患者の組織検体と同じスライドに陽性および陰性の対照組織をのせることを強く推奨しています。患者検体と同じ方法でCINtec p16陽性、CINtec p16陰性の対照組織を固定し、処理する必要があります。既知の陽性および陰性の対照組織は専ら、各検体処理工程のほか、染色操作における試薬や機器が正常に機能しているかを確認するために使用します。組織の処理から染色に至る全行程を確認します。

精度管理には、p16免疫染色が陽性であることがわかっているCIN2やCIN3、子宮頸癌組織が陽性対照組織として適しており、また、p16染色が陰性の正常な子宮頸部組織が陰性対照組織として適しています。評価基準を表1に記載しました。

一方、正常なヒト扁桃組織も対照組織としての使用に適しています。扁桃組織には、CINtec p16染色に陽性と陰性の両者の要素が含まれます。正常な扁桃組織内には、主に陰窩上皮に散在する扁平上皮細胞のほか、胚中心に散在する濾胞樹状細胞の核または細胞質への染色（または両者）が認められ、リンパ球の大部分は染色が認められません（まれにリンパ球の染色が観察されることがあります）。

表1. CINtec p16で染色した子宮頸部対照組織の評価基準

対照組織	適切	不適切
CIN2、CIN3および子宮頸癌	<p>CIN2またはCIN3の対照組織：中層細胞層または中層～表層細胞層への染色の有無を問わず、子宮頸部扁平上皮の基底細胞層および傍基底細胞層に連続的なびまん性の染色を認める</p> <p>子宮頸癌の対照組織：浸潤癌領域に連続的なびまん性の染色を認める</p>	<p>CIN2またはCIN3の対照組織：CINtec p16では染色が観察されない、あるいは、孤立した細胞や小さな細胞集塊への染色（すなわち、特に基底細胞層および傍基底細胞層のものではない、非連続的な染色）が見られる</p> <p>子宮頸癌の対照組織：CINtec p16の染色が観察されない、あるいは、浸潤癌の内側に孤立した細胞や小さな細胞集塊への染色が見られる</p>
正常な子宮頸部扁平上皮	<p>CINtec p16の染色が観察されない、あるいは、孤立した細胞や小さな細胞集塊への染色（すなわち、特に基底細胞層および傍基底細胞層のものではない、非連続的な染色）を認める</p>	<p>中層細胞層または中層～表層細胞層への染色の有無を問わず、子宮頸部扁平上皮の基底細胞層および傍基底細胞層の細胞に連続的なびまん性の染色が見られる</p>

検査フロー

CINtec p16染色では、各症例において連続切片を用いることが推奨されています。HE染色用、CINtec p16染色用、そして陰性対照試薬用の連続切片です。CINtec p16で染色する患者組織スライドには、既知の陽性および陰性の対照組織検体をのせることを推奨します (p.8「対照の使用—陰性対照試薬および対照組織」参照)。

各検体について、最初にHE染色スライドによる評価が必要です。その後、陰性対照試薬で染色した対応するスライドをレビューし、非特異的なバックグラウンド染色の有無を確認します。次にCINtec p16で染色したスライドを解釈します。CINtec p16染色スライド上の陽性および陰性の対照組織検体を評価し、評価可能かどうかを確認します。その後、患者検体をCINtec p16陽性(びまん性のp16染色パターン)またはCINtec p16陰性(限局性のp16染色パターンまたはp16染色なし)と判定します。p16染色パターンによってはじめに評価したHE標本における所見が裏づけられることもあれば、裏づけられないこともあります。CINtec p16染色スライドのレビュー後、HE染色スライドの形態学的評価に基づいて患者検体の最終的なCINグレード(CIN 1、CIN2およびCIN3)を判定します。あるいは、No CINと評価します。図6はCINtec p16染色結果を解釈する全体的なフローチャートです。上皮内にp16陽性細胞が存在しない場合、CINtec p16は陰性となります。p16陽性細胞が存在する場合、その染色パターンをびまん性または限局性に分類する必要があります。子宮頸部扁平上皮内にびまん性のp16染色パターンに限りCINtec p16陽性とみなします。

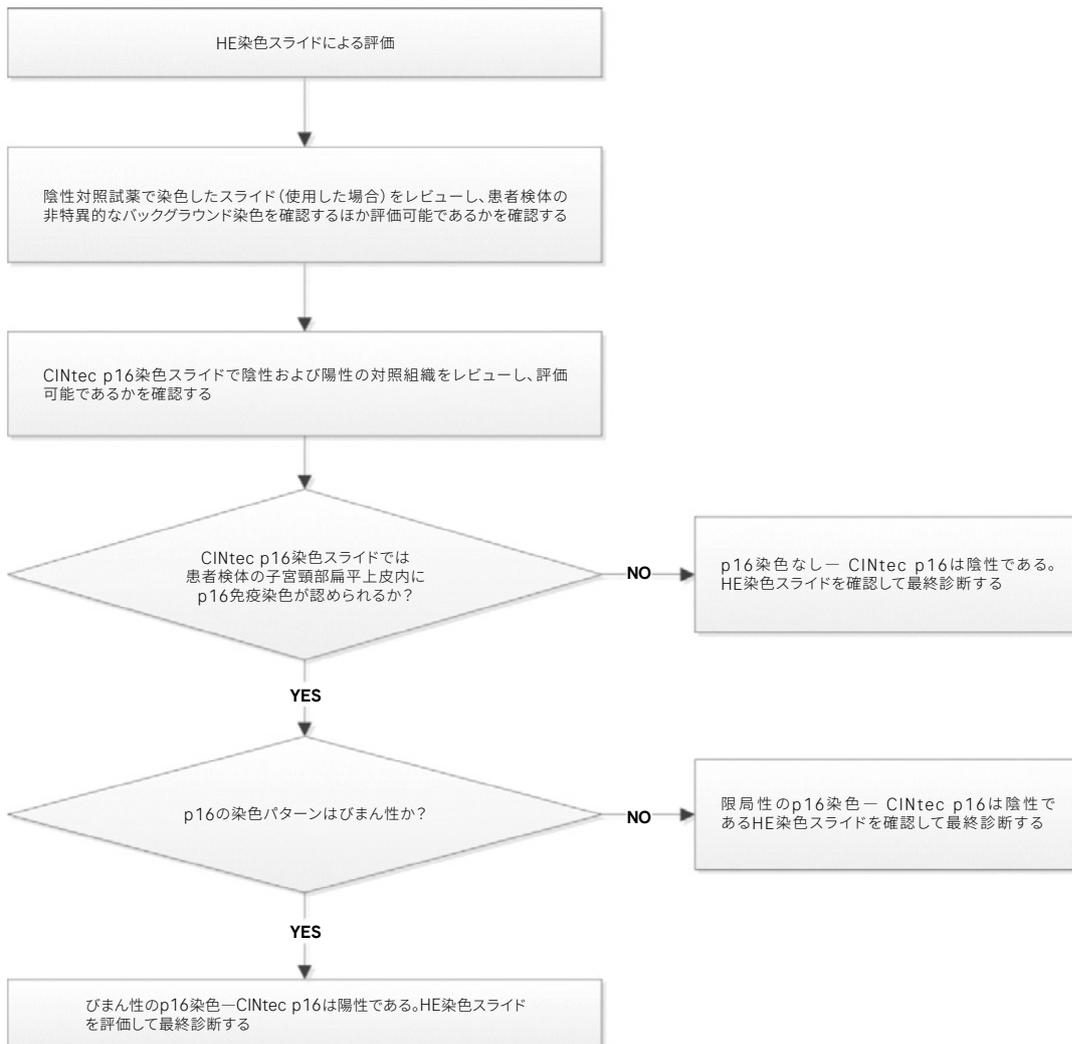


図6. 子宮頸部組織の評価フローチャート

CINtec p16の判定基準—重要な基準

CINtec p16検査は、HE染色スライドによる評価では確認されなかった可能性があるCIN病変を浮かび上がらせる「探知機」の役割を果たします。さらにCINtec p16検査は、HE染色標本に疑わしい病変が確認された場合の鑑別診断に役立つ可能性があります。注目した領域にCINtec p16陽性が確認された場合、CIN1やCIN2、CIN3の診断を考慮する必要があります。高度CIN病変の大部分はびまん性のp16染色パターンを呈するため、CINtec p16陰性を示す検体であれば、高度CIN病変の診断の裏づけとはならないと考えられます。ただし、CINtec p16陰性を示す高悪性度の症例に遭遇することもあります。CINtec p16のステータスはHE染色標本に基づく診断を覆すものではなく、補完するものです。CINtec p16染色スライドの結果を、それ以外の臨床情報と併せて考慮し、HE染色スライドの評価に基づいて患者検体の最終診断が下されます。

■CIN1はあらゆるp16染色パターンを呈する可能性がある

CIN1はあらゆるp16染色パターンを示す可能性があることに留意する必要があります。CIN1は「p16染色なし」や「限局性のp16染色」、「びまん性のp16染色」のp16染色を呈する可能性があります。

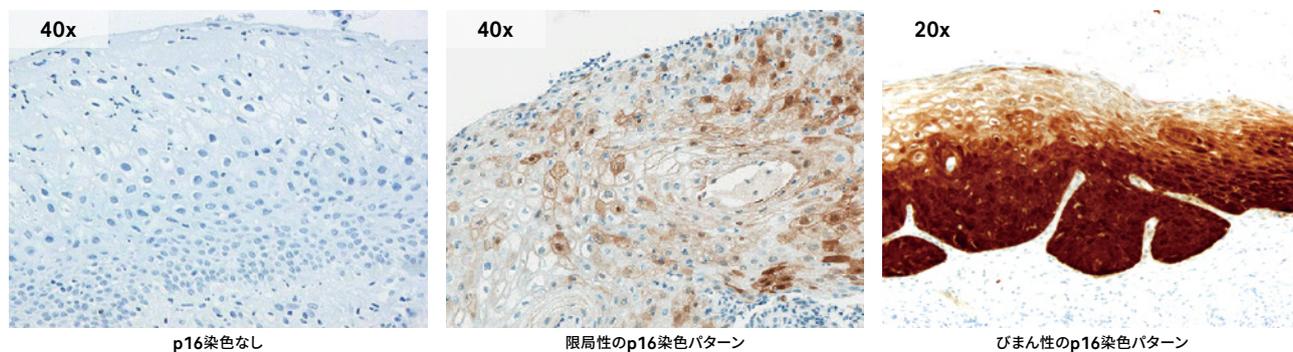


図7.CIN 1染色例：CIN1におけるCINtec p16染色は、p16染色なし(左)、限局性のp16染色パターン(中)および、びまん性のp16染色パターン(右)の全染色パターンを呈する可能性がある。最終的なCIN分類は各々のHE染色スライド(ここには掲載していない)に基づく。

■全層に渡るびまん性の染色像は高度CIN病変を示す指標とは限らない

さまざまな研究により、CIN1の40%～60%がびまん性に陽性であることが確認されています。さらに、CIN1のびまん性のp16染色パターンは様々であり基底側1/3、2/3、1/2、または全層におよぶものもあります。上皮全層に渡る染色像が、高度CIN病変を示す指標ではありません。HE染色スライドによる形態学的評価に基づきCIN1、CIN2、CIN3のいずれかにグレード分類する必要があります。

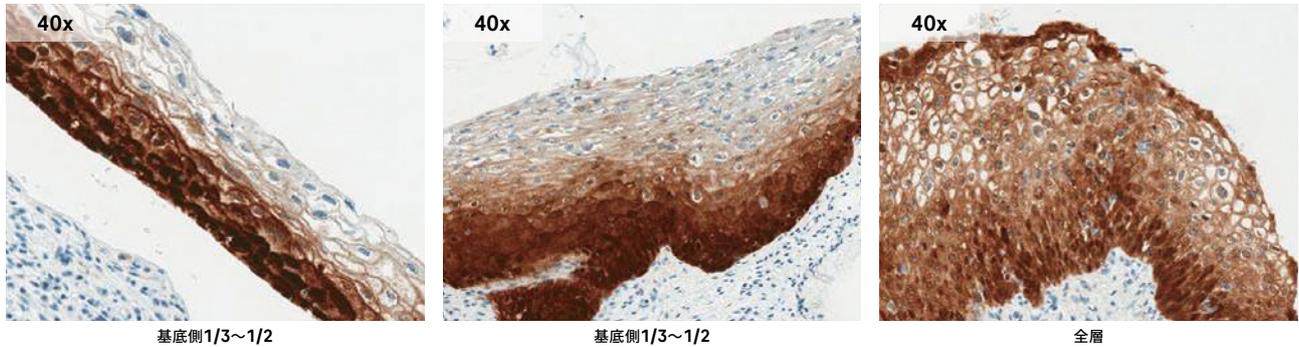


図8.CIN1染色例：基底側1/3～1/2にびまん性のp16染色パターン(左と中)のほか、全層にびまん性のp16染色(右)を呈したCIN1の症例。各々の症例はCINtec p16陽性を示す。症例の最終診断はHE標本による評価に基づく。

■CINtec p16は核または細胞質への染色(または両者)である

染色の評価ではp16タンパクの細胞内局在は考慮しません。核または細胞質(または両者)への染まりを呈する細胞であれば、p16の過剰発現がある(陽性)とみなされます。ほとんどの場合、核と細胞質の両方に染色が認められます。

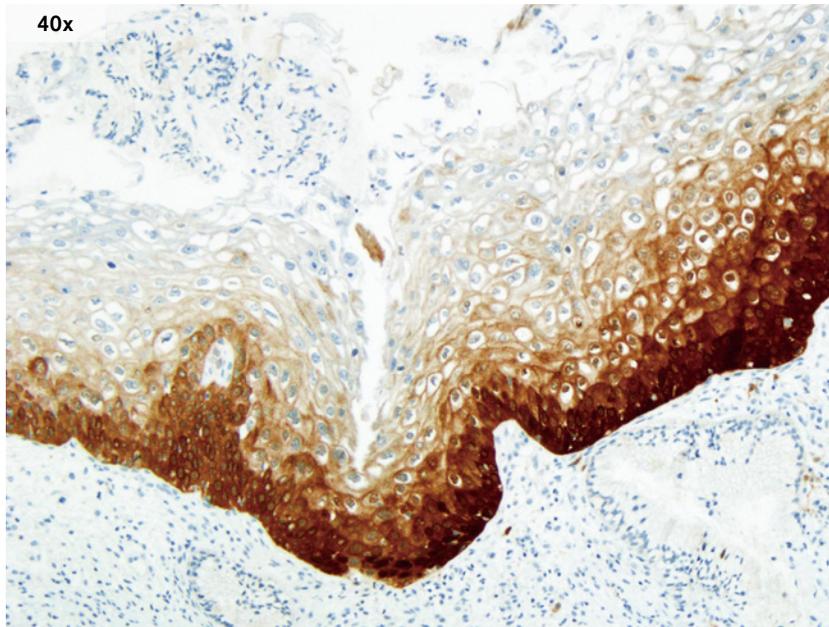


図9.CINtec p16染色の局在：びまん性のp16染色パターンを呈する子宮頸部生検組織。基底細胞層および傍基底細胞層のほとんどに核と細胞質の両方に染色が認められる。ただし、上皮の上側になると、核のみ染色を呈する細胞もあれば、細胞質のみ染色を呈する細胞もある。

■ CINtec p16染色の判定には、染色強度は評価しない

CINtec p16染色の判定時には、染色強度は評価しません。典型的な例として、びまん性に病変の大部分が暗褐色に染色されます。しかし、場合によってはCINtec p16染色がさほど強くないこともあります。あるいは、基底細胞層および傍基底細胞層では染色が暗く、中層細胞層または中層～表層細胞層ではp16染色が次第に明るくなるグラデーションがみられることもあります。

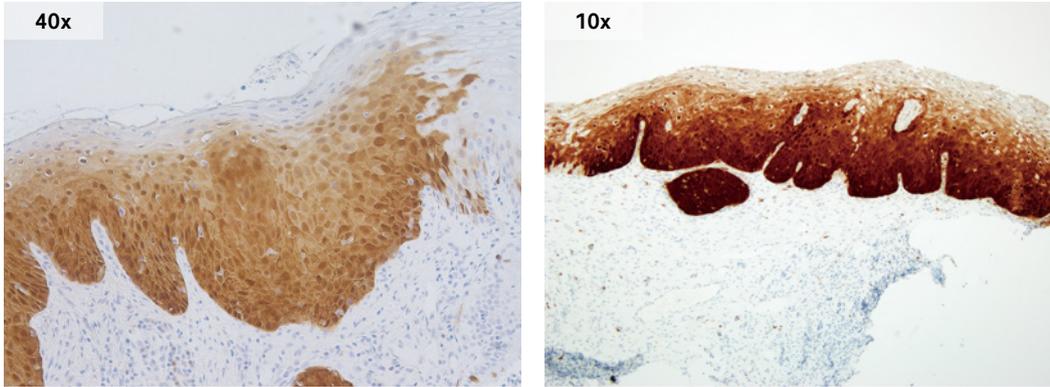


図10. CINtec p16染色強度のバリエーション：さほど強くないびまん性のp16染色パターンを呈した子宮頸部生検組織（左）。びまん性のp16染色を呈した子宮頸部生検組織（右）。いずれの組織像も基底細胞層および傍基底細胞層では暗い染色を呈し、中層細胞層および中層～表層細胞層では次第に明るくなるグラデーションが認められる。

解釈には考慮に入れない CINtec p16染色

■ 間質細胞の染色

間質細胞がCINtec p16によって染色されることがあります。CINtec p16染色の解釈は扁平上皮に限ります。そのため、CINtec p16染色を評価する際に間質細胞の染色は考慮に入れません。図11は、びまん性に染色された子宮頸部扁平上皮病変の下にみられる間質細胞への染色例を示します。場合によっては、間質細胞の核や細胞質に強い染色を認めることもあります。それでも評価の際には間質細胞への染色は考慮に入れません。

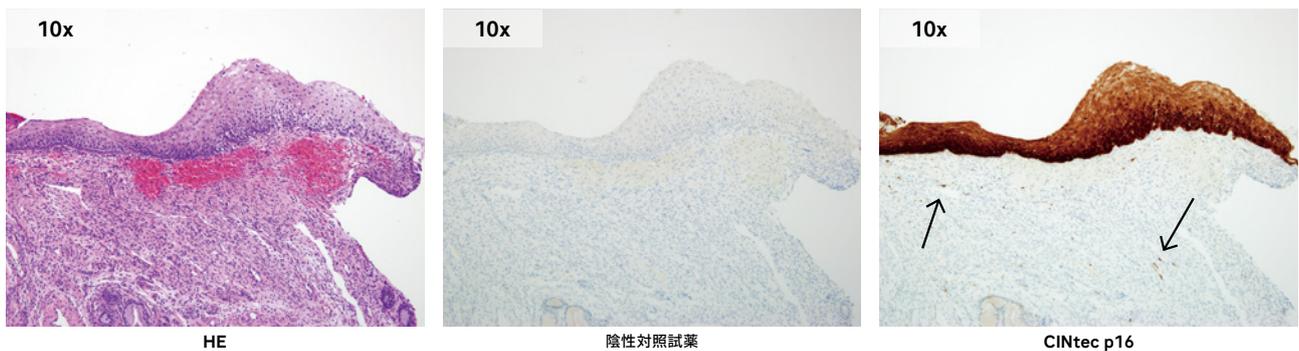


図11. 間質細胞への染色性：びまん性に染色した子宮頸部病変の下の間質細胞に染色を認める子宮頸部生検組織（右、CINtec p16染色スライド）。間質細胞を矢印で示す。CINtec p16のステータスを評価する際には間質細胞への染色は考慮しない。

■子宮頸管内細胞の染色

腺上皮(または子宮頸管内の細胞)が強度に染色するのは珍しいことではありません。図12は子宮頸管内の上皮組織にCINtec p16染色が認められる症例を示します。腺上皮(または子宮頸管内の細胞)のCINtec p16の染色は考慮しません。CINtec p16染色は、子宮頸部扁平上皮のみを評価します。

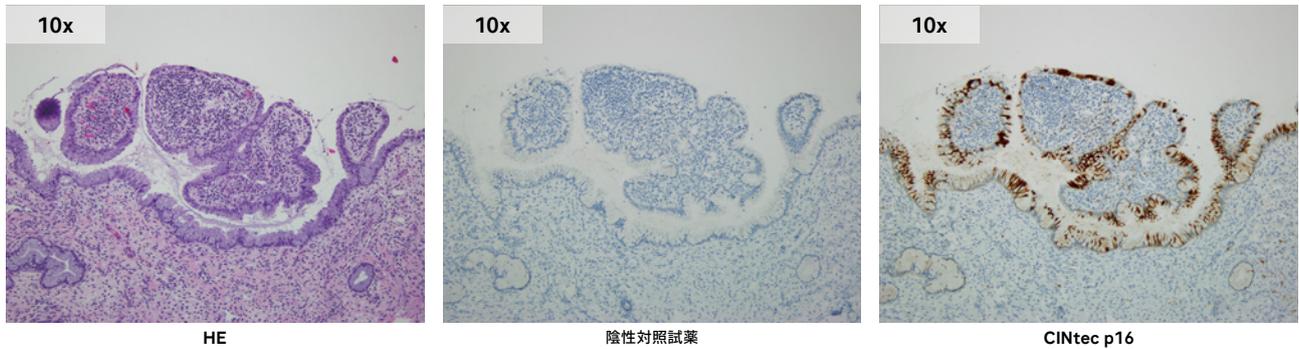


図12.子宮頸管細胞へのCINtec p16染色例：子宮頸管内の細胞にCINtec p16染色を呈した子宮頸部生検組織(右、CINtec p16染色スライド)。CINtec p16のステータスを判定する際には子宮頸管内の細胞の染色は考慮しない。

■バックグラウンド染色

検体によっては粘液や色素沈着が観察されることがあります。また、陰性対照試薬スライドやCINtec p16染色スライドでは色素沈着が観察されることが珍しくありません(図13)。この種のバックグラウンド染色は、患者検体のCINtec p16のステータスを解釈するには除外する必要があります。

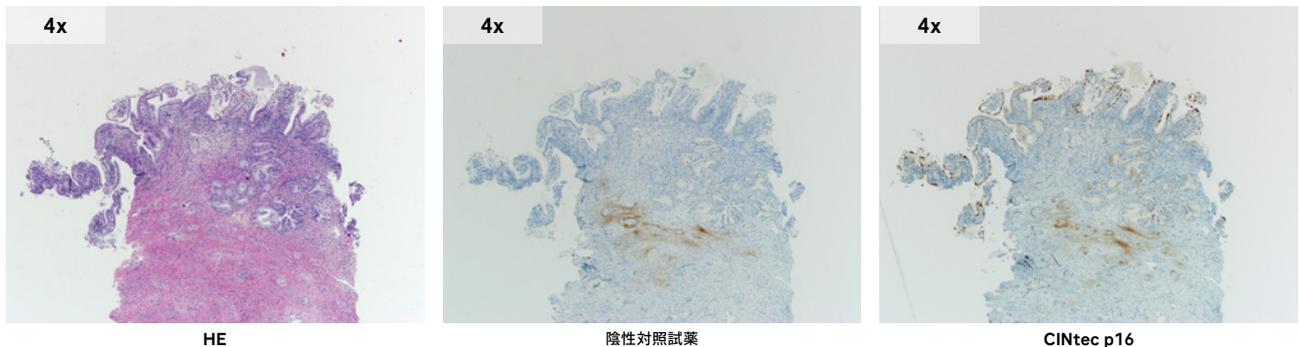


図13.色素沈着の例：組織下部の内側に色素沈着を認める子宮頸部生検組織(中、陰性対照試薬スライド、右、CINtec p16染色スライド)。そのほか、粘液および子宮頸管腺への明らかな染色が見られる(右、CINtec p16染色スライド)。

参考症例

■炎症

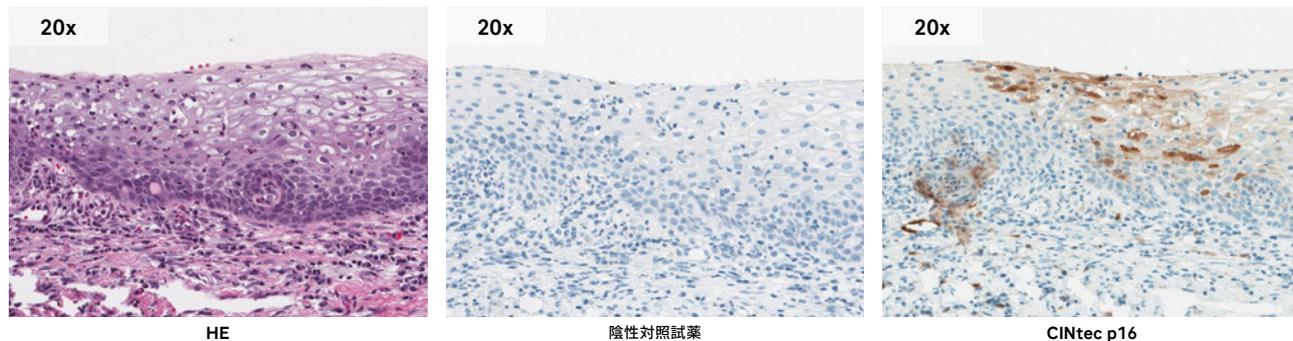


図15. CINtec p16 陰性：この子宮頸部生検組織には多少の炎症が認められる。上皮内に好中球が、その下の間質内に形質細胞およびリンパ球が認められる(左、HE染色)。CINtec p16染色(右)は、中層および表層の上皮細胞層に最も顕著に限局性のp16染色を呈する。暗く染色された少数の単一の細胞、染色強度が中等度の細胞、弱く染色された細胞が認められる。基底細胞および傍基底細胞への染色は認めない。

■扁平上皮化生

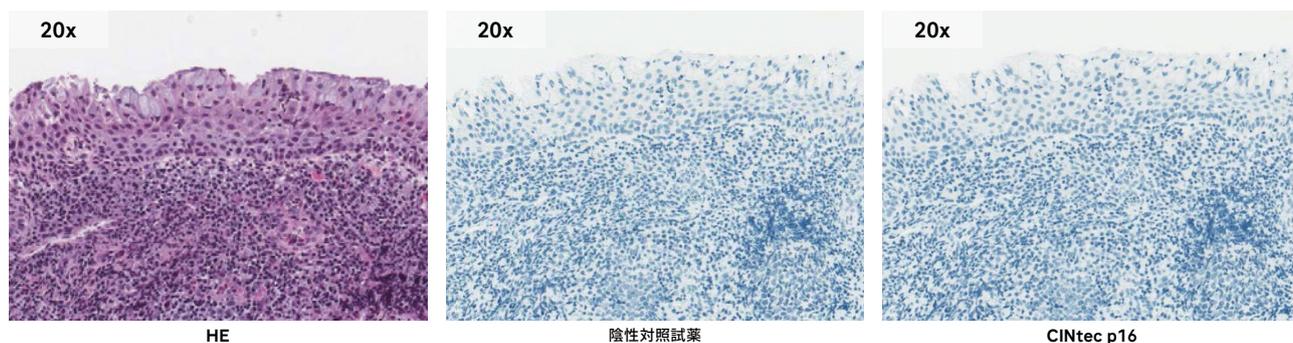


図16. CINtec p16 陰性：炎症領域の扁平上皮化生(左、HE染色)を認める。p16染色なし(右、CINtec p16染色)

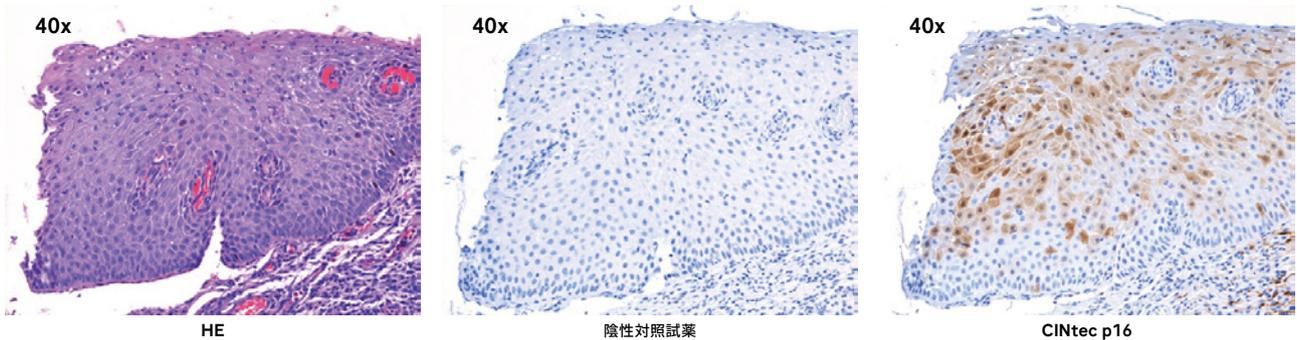


図17. CINtec p16 陰性：扁平上皮化生(左、HE染色)が見られる。限局性のp16染色パターン(右、CINtec p16染色)を呈し、上皮の至る所に小さな細胞集塊への染色が認められる。

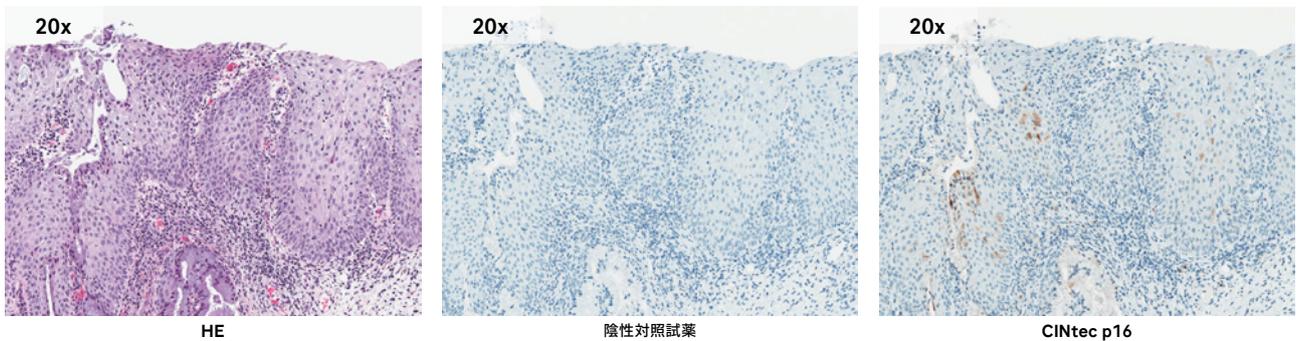


図18. CINtec p16 陰性：限局性のp16染色パターン(右、CINtec p16染色)を呈した扁平上皮化生(左、HE染色)。

■ コンジローマ

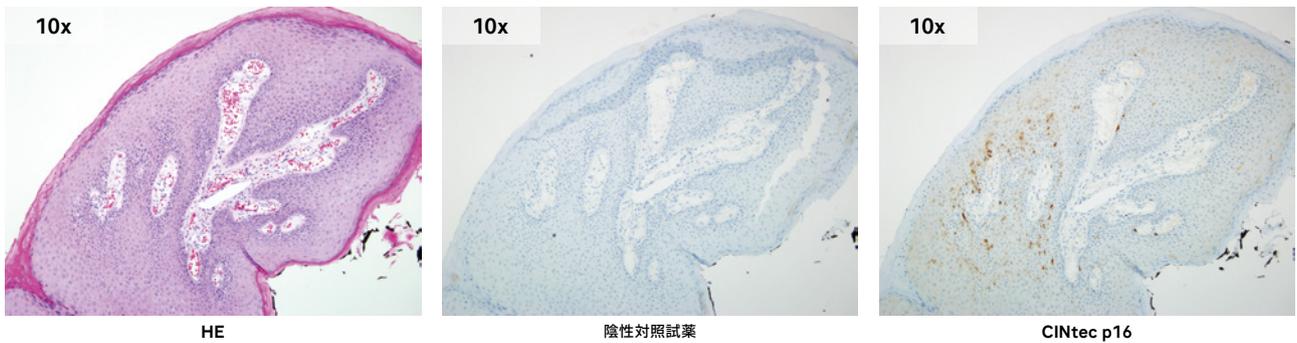


図19. CINtec p16 陰性：コンジローマ(左、HE染色)を認める。限局性のp16染色パターンを呈し、(右、CINtec p16染色)上皮の至る所に散在する主に単一の細胞や、小さな細胞集団に限局性のp16染色が観察される。

■ CIN1

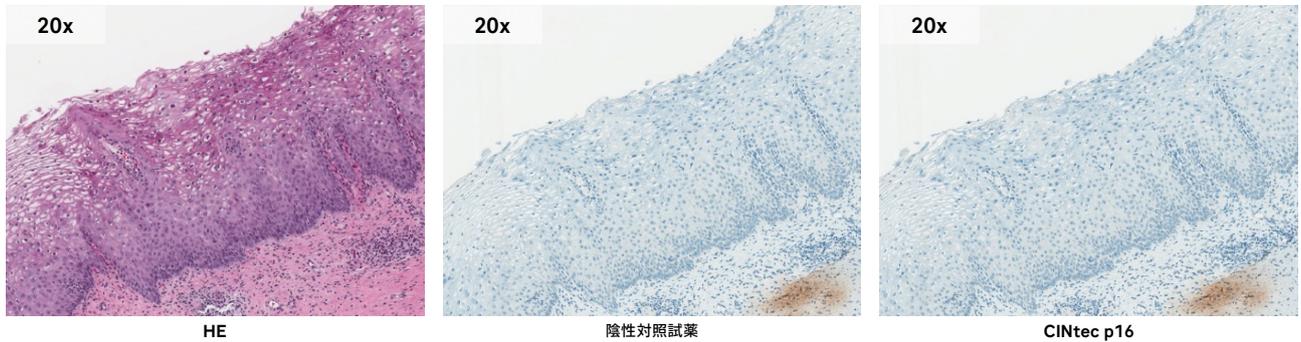


図20. CINtec p16 陰性：HE染色(左)において表層に明らかなコイロサイトーシスを認めるため、CIN1と診断される症例。本症例においては、CINtec p16染色は陽性所見なし(右)。陰性対照試薬染色(中)でもCINtec p16染色(右)でも、扁平上皮の下に色素沈着が観察される。

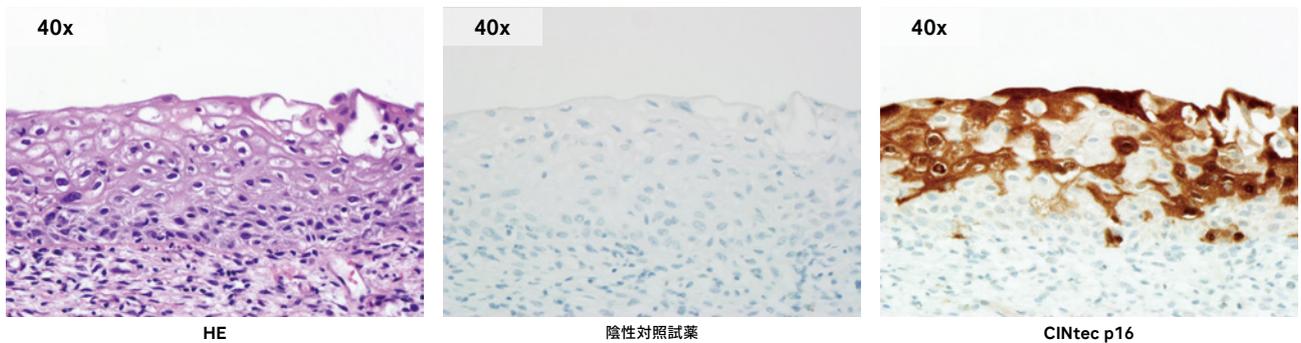


図21. CINtec p16 陰性：限局性p16染色パターン(右)が見られ、上皮の至る所に、暗く染色された単一細胞や、比較的明るく染色された細胞がいくつか認められる。基底細胞および傍基底細胞への染色は認められない。HE染色(左)とあわせて、CIN1と診断される症例。

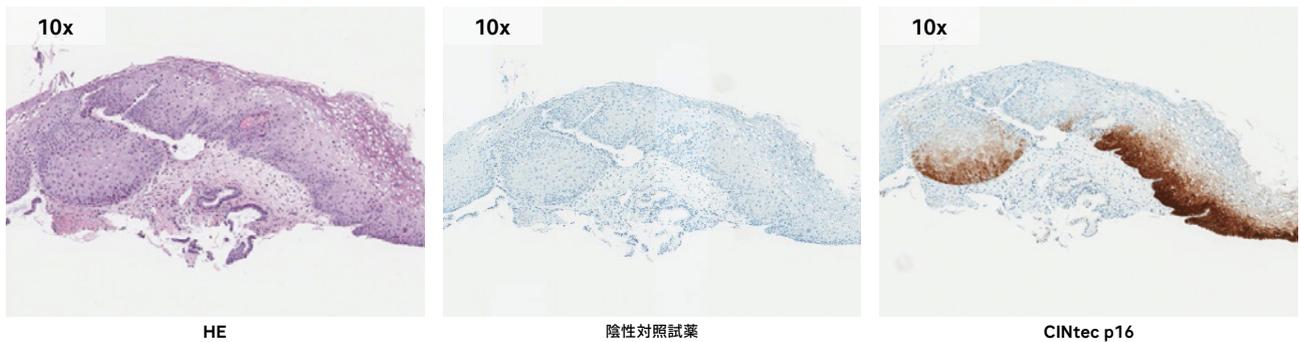


図22. CINtec p16 陽性：基底側1/3に連続的なびまん性のp16染色(右)が認められ、HE染色(左)とあわせて、CIN1と診断される症例。

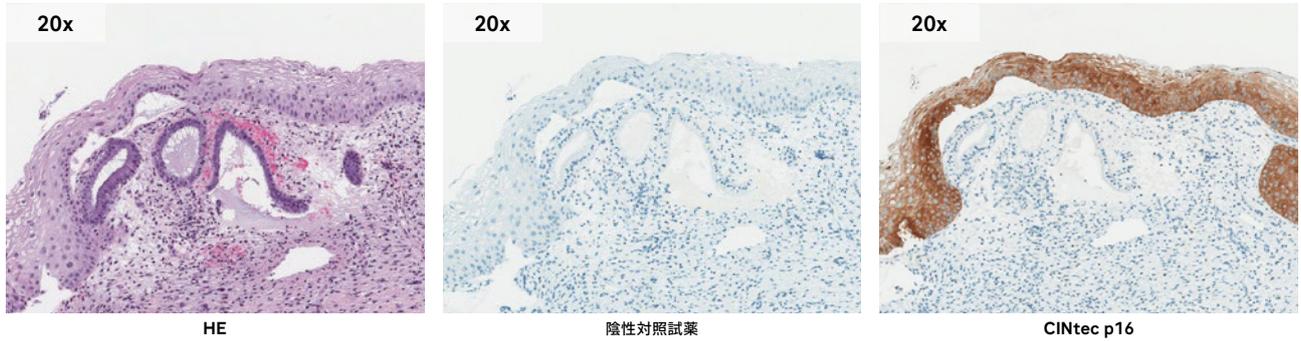


図23. CINtec p16 陽性：びまん性のp16染色パターン(右)を呈し、HE染色(左)とあわせてCIN1と診断される症例。上皮へのp16染色の割合はまちまちであり、領域によっては全層に近い。この症例は比較的染色強度は弱いが、CINtec p16の解釈の際に、強度は評価しない。

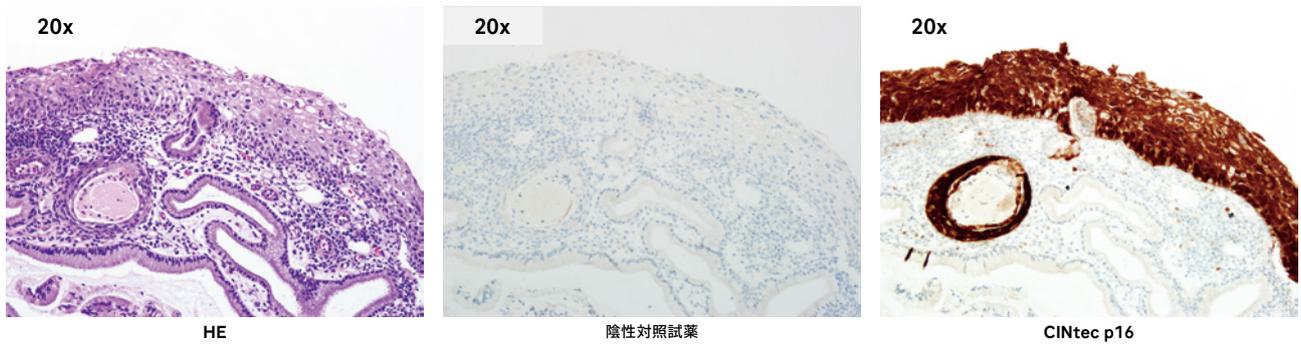


図24. CINtec p16 陽性：病変全体の上皮の全層に及ぶびまん性のp16パターン(右)を認めるものの、HE染色(左)とあわせて、CIN1と診断される症例。また、頸管腺への染色も目立つ。(右)

■ CIN2

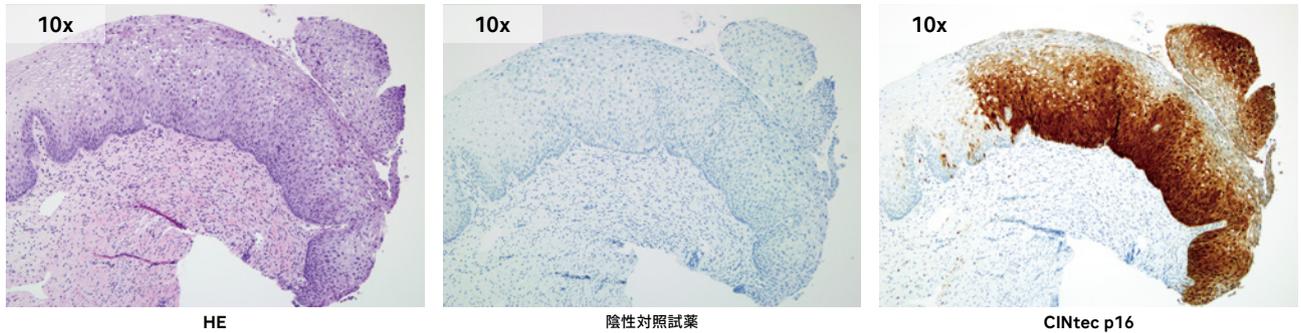


図25. CINtec p16 陽性：HE染色(左)において上部の上皮に多少のコイロサイトーシスを認め、CIN2と診断される症例。CINtec p16染色(右)は病変部にびまん性のp16染色(CINtec p16陽性)を呈し、このびまん性のp16染色は正常な上皮への移行部では、認めなくなる。

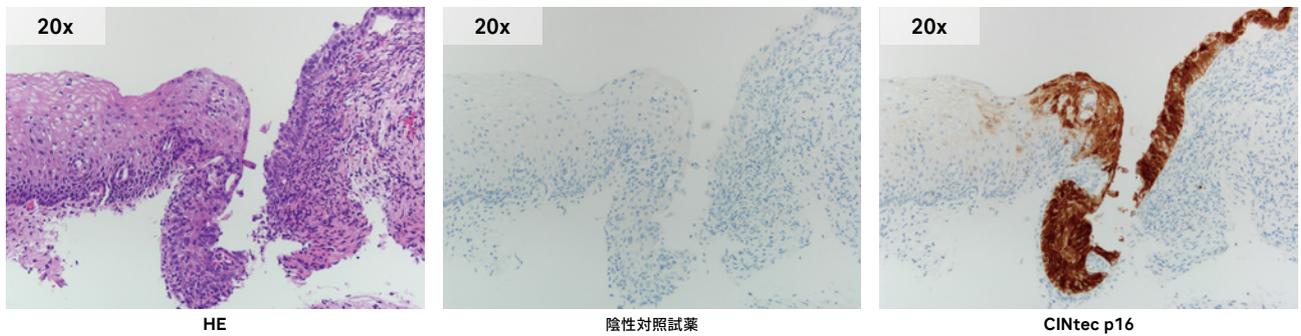


図26. CINtec p16 陽性：CINtec p16 染色(右)において全層にびまん性のp16染色を認め、HE染色(左)とあわせてCIN2と診断される。

■ CIN3

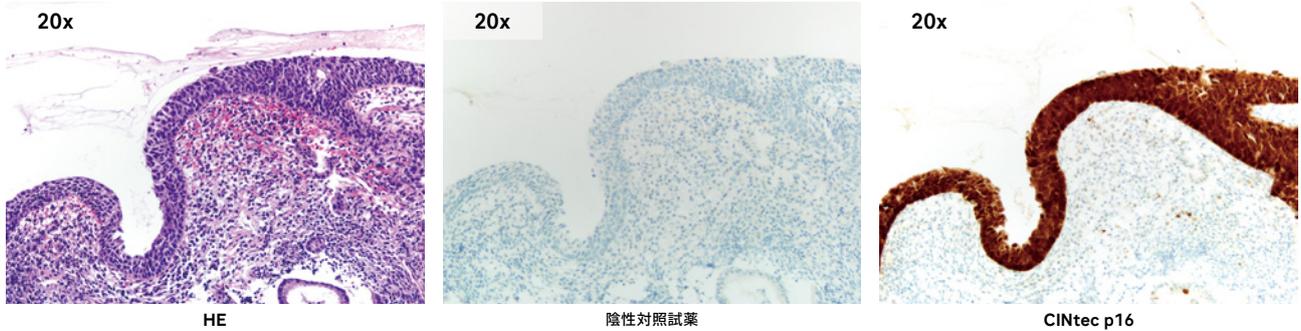


図27. CINtec p16 陽性：びまん性のp16染色(右)を認め、HE染色(左)とあわせてCIN3と診断された症例。

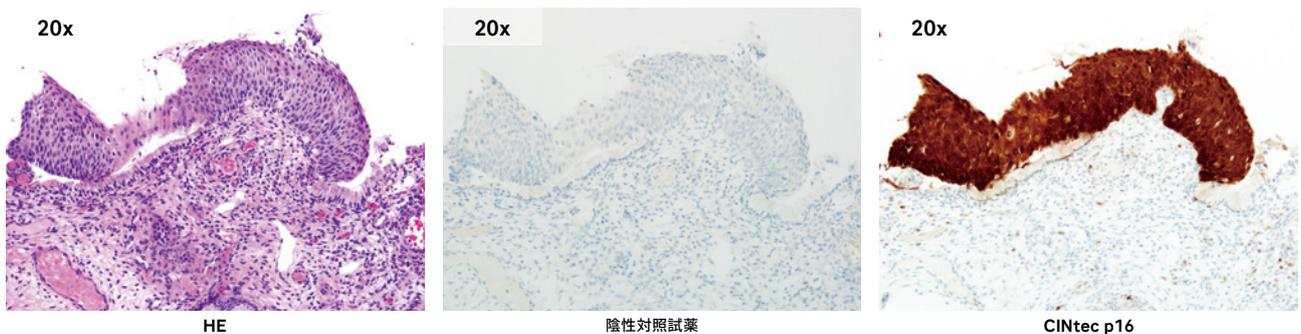


図28. CINtec p16 陽性：びまん性のp16染色(右)を認め、HE染色(左)とあわせてCIN3と診断された症例。

CINtec p16によって浮かび上がった小病変

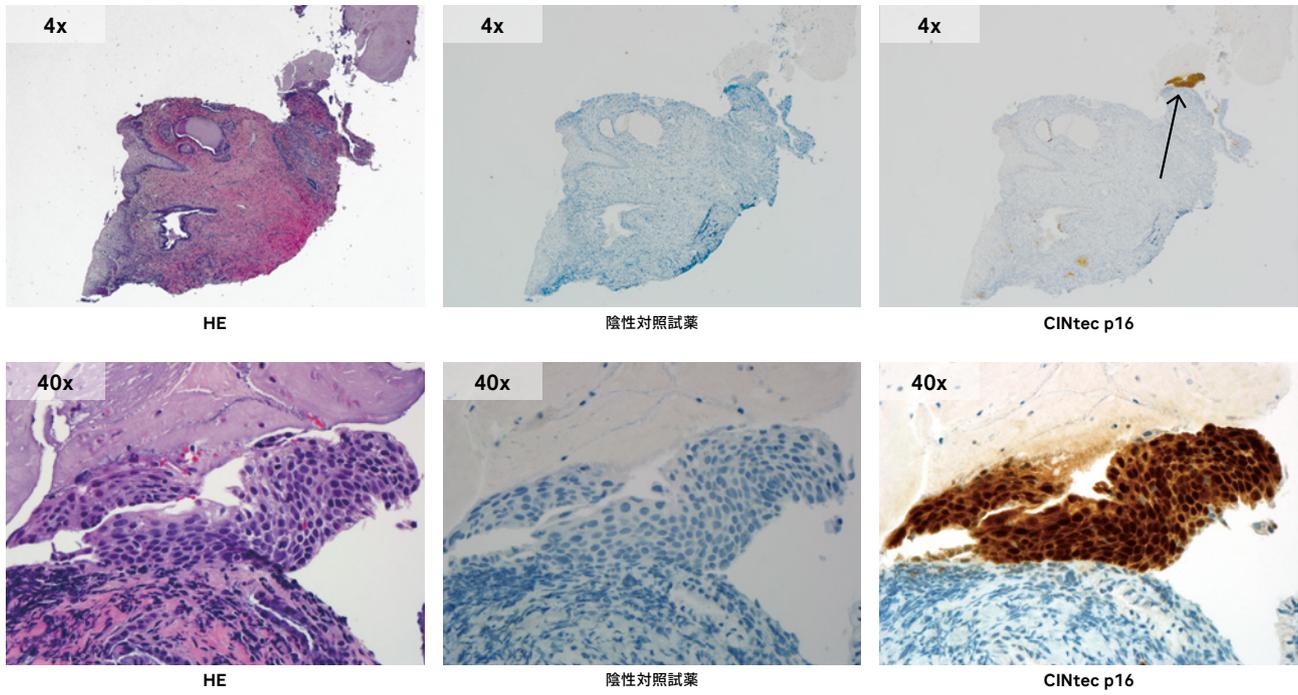


図29. CINtec p16 陽性：CINtec p16によって明らかとなった小病変：倍率4倍および40倍では、CINtec p16染色標本（右上および右下）上に小さなびまん性のp16染色を呈する領域を認める。40倍のHE染色（左下）の評価により、この小病変はCIN2と診断される。この病変はHE染色単独では見落とされていた可能性がある。

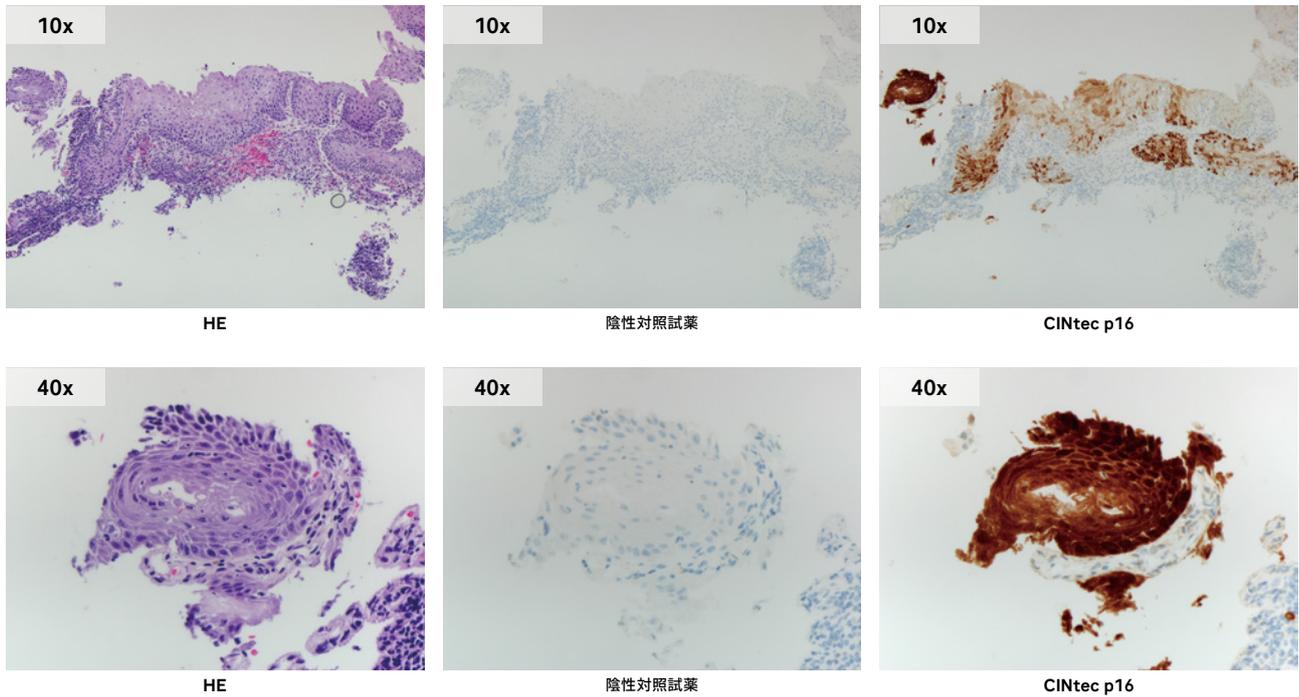


図30. CINtec p16 陽性：CINtec p16によって明らかとなった小病変：倍率10倍で、この症例は扁平上皮内に慢性炎症のほか、反応性と思われる変化を認める（左上、HE染色）。CINtec p16 染色により、びまん性のp16染色を呈した上皮の断片が浮かび上がる（右上および右下、CINtec p16 染色）。40倍のHE染色（左下）での評価により、この症例はCIN2と診断される。

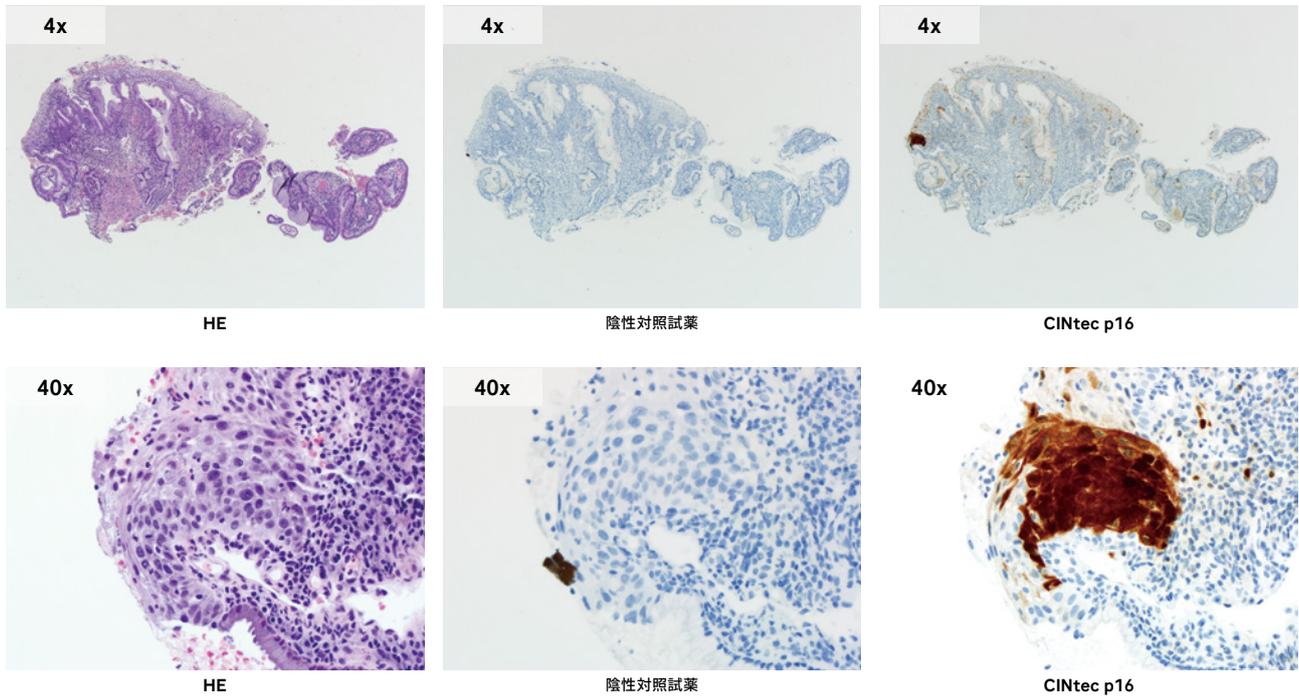


図31. CINtec p16 陽性:CINtec p16によって明らかとなった小病変:倍率4倍および40倍では、CINtec p16 染色標本(右上および右下)上にびまん性にp16染色を呈する小さな領域を認める。40倍のHE染色(左下)の評価により、この小病変はCIN2と診断される。この病変はHE染色単独では見落とされていた可能性がある。

参考文献

1. Sano T, Oyama T, Kashiwabara K, et al. Expression status of p16 protein is associated with human papillomavirus oncogenic potential in cervical and genital lesions. *Am J Pathol.* 1998;153(6):1741-1748.
2. Negri G, Egarter-Vigl E, Kasal A, et al. p16INK4a is a useful marker for the diagnosis of adenocarcinoma of the cervix uteri and its precursors: a tissue microarray study with immunocytochemical correlations. *Am J Surg Pathol.* 2003;27(2):187-193.
3. von Knebel Doeberitz M, Vinokurova S. Host factors in HPV-related carcinogenesis: cellular mechanisms controlling HPV infections. *Arch Med Res.* 2009;40(6):435-442.
4. Vooteeve PM, Agarni R. The tumor-suppressive functions of the human INK4a locus. *Cancer Cell.* 2003;4:311-9.
5. Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D, et al. Overexpression of p16 (INK4a) as a specific marker for dysplasia and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. *Int J Cancer.* 2001;92(2):276-284.
6. Klaes R, Benner A, Friedrich T, et al. p16INK4a immunohistochemistry improves interobserver agreement in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Pathol.* 2002;26(11):1389-1399.
7. Negri G, Vitadello F, Romano F, et al. p16INK4a expression and progression risk of low-grade intraepithelial neoplasia of the cervix uteri. *Virchows Arch.* 2004;445(6):616-620.
8. Wentzensen N, von Knebel Doeberitz M. Biomarkers in cervical cancer screening. *Dis Markers.* 2007;23(4):315-330.
9. Cuschieri K, Wentzensen N. Human papillomavirus mRNA and p16 detection as biomarkers for the improved diagnosis of cervical neoplasia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17(10):2536-2545.
10. Tosunpol J, Arbyn M, Kyrgiou M, et al. p16INK4a immunostaining in cytological and histological specimens from the uterine cervix: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Treat Rev.* 2009;35(3):210-220.
11. Dijkstra MG, Heideman DA, de Roy SC, et al. p16 (INK4a) immunostaining as an alternative to histology review for reliable grading of cervical intraepithelial lesions. *J Clin Pathol.* 2010;63(11):972-977.
12. Bergeron C, Ordi J, Schmidt D, et al. European CINtec Histology Study Group. Conjunctive p16INK4a testing significantly increases accuracy in diagnosing high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Clin Pathol.* 2010;133:395-406.
13. Galgano MT, Castle PE, Atkins KA, et al. Using biomarkers as objective standards in the diagnosis of cervical biopsies. *Am J Surg Pathol.* 2010;34:1077-1087.
14. Massad LS, Einstein MH, Huh WK, et al. 2012 Updated consensus guidelines for the management of abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors. *J Low Genit Tract Dis.* 2013;17(5 Suppl 1):S1-S27.
15. Arbyn M, Kyrgiou M, Simoons C, et al. Perinatal mortality and other severe adverse pregnancy outcomes associated with treatment of cervical intraepithelial neoplasia: meta-analysis. *BMJ.* 2008;337:a1284.
16. Albrechtsen S, Rasmussen S, Thoresen S, et al. Pregnancy outcome in women before and after cervical conisation: population based cohort study. *BMJ.* 2008;337:a1343

17. Sadler L, Saftlas A, Wang W, et al. Treatment for cervical intraepithelial neoplasia and risk of preterm delivery. *JAMA*. 2004;291(17):2100-2106.
18. Park KJ, Soslow RA. Current concepts in cervical pathology. *Arch Pathol Lab Med*. 2009;133(5):729-738.
19. Stoler MH, Schiffman M. Atypical squamous cells of undetermined significance-low-grade squamous intraepithelial lesion triage study (ALTS) group. Interobserver reproducibility of cervical cytologic and histologic interpretations: realistic estimates from the ASCUS-LSIL Triage Study. *JAMA*. 2001;285(11):1500-1505.
20. Stoler MH, Ronnett BM, Joste NE, New Mexico HPV Pap registry steering committee, et al. The interpretive variability of cervical biopsies and its relationship to HPV status. *Am J Surg Pathol*. 2015;39(6):729-736.
21. Reuschenbach M, Wentzensen N, Dijkstra MG, et al. p16INK4a immunohistochemistry in cervical biopsy specimens: A systematic review and meta-analysis of the interobserver agreement. *Am J Clin Pathol*. 2014;142(6):767-72.
22. De Vet HCW, Knipschild PG, Schouten HJA, et al. Interobserver variation in histopathological grading of cervical dysplasia. *J Clin Epidemiol*. 1990;43:1395-8.
23. Creagh T, Bridger JE, Kupek E, et al. Pathologist variation in reporting cervical borderline epithelial abnormalities and cervical intraepithelial neoplasia. *J Clin Pathol*. 1995;48(1):p. 59-60.
24. Ceballos KM, Chapman DW, Daya D, et al. Reproducibility of the histological diagnosis of cervical dysplasia among pathologists from 4 continents. *Int J Gynecol Pathol*. 2008; 27(1):p. 101-7.
25. Guarch-Diaz CM, Suarez-Rincon AE, Vazquez-Camacho G, et al. p16INK4a immunohistochemistry improves the reproducibility of the histological diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia in cone biopsies. *Gynecol Oncol*. 2008;111(1):120-124.
26. Horn LC, Reichert A, Oster A, et al. Immunostaining for p16INK4a used as a conjunctive tool improves interobserver agreement of the histologic diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Pathol*. 2008;32(4):502-512.
27. Sayed K, Korourian S, Ellison DA, et al. Diagnosing cervical biopsies in adolescents: the use of p16 immunohistochemistry to improve reliability and reproducibility. *J Low Genit Tract Dis*. 2007;11(3):141-146.
28. Darragh TM, Colgan TJ, Cox JT, et al. The lower anogenital squamous terminology standardization project for HPV-associated lesions: Background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. *J Low Genit Tract Dis*. 2012;16:205-242. Erratum in *J Low Genit Tract Dis*. 2013;17:36.
29. Stoler M, Bergeron C, Colgan TJ, et al. Tumors of the uterine cervix. In: Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS, et al. (Eds.), *WHO classification of tumors of female reproductive organs*. Lyon, France: IARC and WHO, 2014;169-2068.

VENTANA, BENCHMARK, CINTEC
およびOPTIVIEWはロシュの商標です。

Published by

ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社

〒108-0075 東京都港区 港南1-2-70

<https://www.roche-diagnostics.jp>

☎0120-600-152

diagnostics.roche.com
