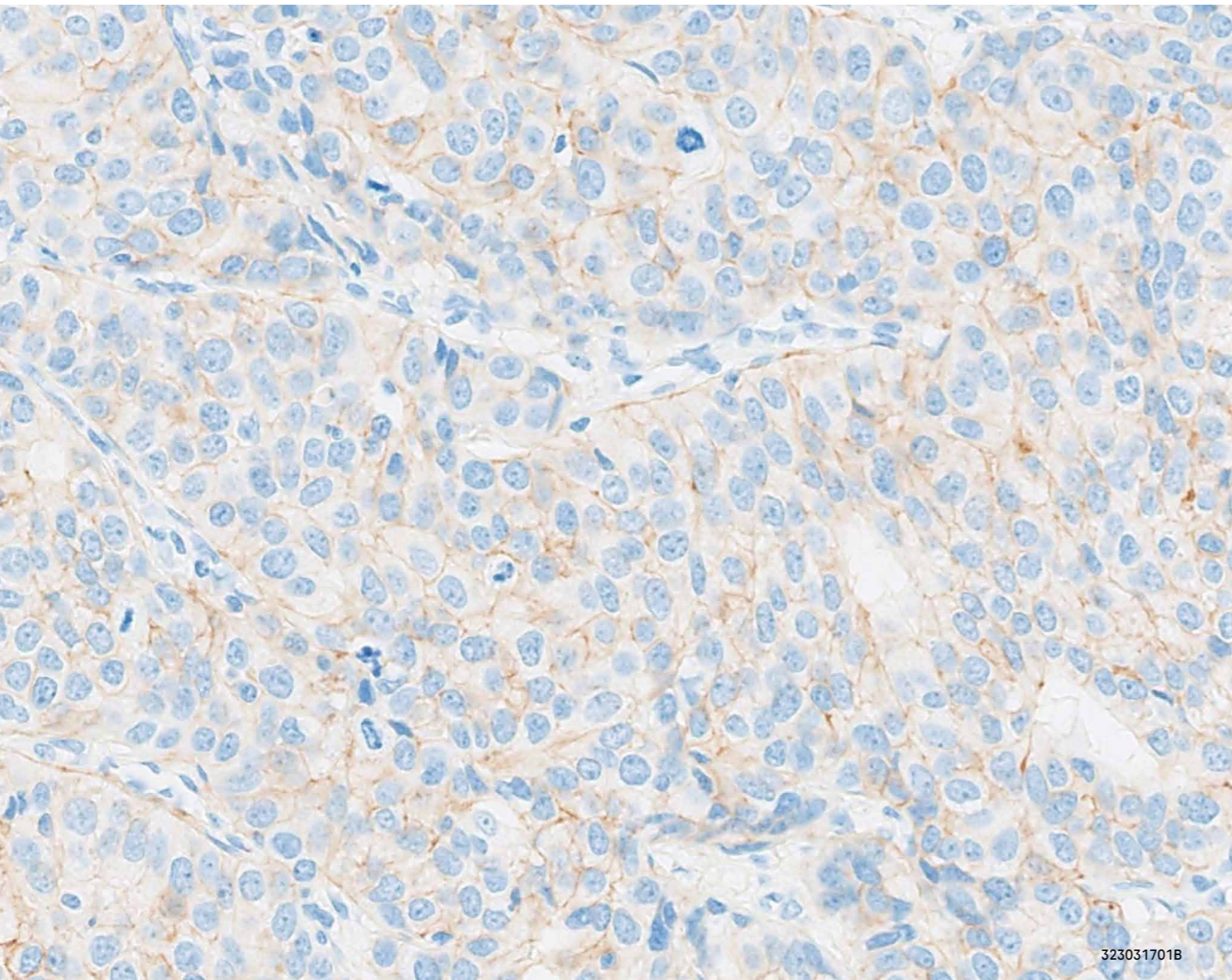


ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社
〒108-0075 東京都港区 港南1-2-70
<http://www.roche-diagnostics.jp>
カスタマーソリューションセンター ☎0120-600-152

「VENTANA」は、ロシュ社の登録商標です。

体外診断用医薬品

ベンタナ ultraView パスウェーHER2 (4B5) 判定ガイド～乳癌編～



323031701B



目次

はじめに	2
ペンタナ ultraView パスウェーHER2 (4B5) 判定ガイド～乳癌編～	4
使用目的	4
製品の使用目的	4
判定ガイドの目的	4
精度管理	5
検査ワークフロー	9
検査フロー	10
染色結果の判定	11
染色の特徴	11
染色様式と強度	11
スコアリングアルゴリズム	12
参考画像	13
参考症例	13
アーチファクト／判定が難しい症例	59
参考文献	82

はじめに

ペンタナ ultraView パスウェーHER2 (4B5) は、c-erbB-2 (HER2) タンパクの細胞内ドメインに結合します。HER2は1986年、Akiyamaらによってクローニングされ、その特徴が明らかとなりましたが、構造的に上皮成長因子受容体 (EGFR) と類似した約185-kDaの膜貫通型の糖タンパクです¹。

クローン4B5は、ウエスタンブロットリング法によってSK-BR-3細胞 (128倍のHER2 mRNA過剰発現を示す乳癌細胞株) から抽出された185 kDaのタンパク質と反応することが明らかにされています。確認されたバンドのサイズは、Akiyamaらによって報告されたHER2タンパクのサイズ (185 kDa) とよく相関します¹。

HER2は抗HER2治療薬の効果予測因子でもあり、乳癌においては、2001年に日本で最初のヒト化モノクローナル抗体治療薬として承認されたトラスツズマブをはじめ、ペルスツズマブやT-DM1などの種々の抗HER2治療薬が承認されています。

国際共同第III相試験 (DESTINY-Breast04試験) の成績に基づき、2023年3月にトラスツズマブ デルクステカンの単剤療法が化学療法歴のあるHER2低発現の手術不能または再発乳癌に対して適応が拡大され、「ペンタナ ultraView パスウェーHER2 (4B5)」がコンパニオン診断薬として承認されています。

種々の抗HER2治療薬の投与に先立って、HER2タンパクの発現を確認することは、投与対象の患者選別や治療効果予測に欠かせない検査となっています。

使用目的

■製品の使用目的

ベンタナ ultraView パスウェーHER2 (4B5) 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 ultraView DAB ユニバーサルキットを使用し、ホルマリン固定パラフィン包埋された生体由来の組織又は細胞中に含まれるHER2タンパクの検出 (悪性腫瘍の診断補助等) を目的としています。また、本製品は、がん組織又は細胞中のHER2タンパクの検出により、トラスツマブ デルクステカン (遺伝子組換え) の乳癌患者への適応を判定するための補助に用います。

■判定ガイドの目的

本ガイドは以下を目的としています：

本ガイドは、ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 乳癌切片をベンタナ ultraView パスウェーHER2 (4B5) で染色した際のHER2タンパク発現の判定基準および様々な症例の提示を目的としています。

注) 検体作製や精度管理、染色手順等の詳細はあわせてHER2検査ガイドを参照ください。

*適応機種は、

ベンタナ ベンチマーク GX (医療機器：13B1X002010000531)

ベンタナ XT システム ベンチマーク XT (医療機器：13B1X00201000043)

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) です。

製品概要、試薬の準備、導入時の機器整備、機器の定期メンテナンス

ベンタナ ultraView パスウェーHER2 (4B5) (体外診断用医薬品製造販売承認番号：22300AMX01167000) は、検出キット (別売り) との組み合わせにより体外診断用医薬品として承認されています。詳細は、HER2検査ガイド (p3-5) をご参照ください。

検体処理 (検体採取～包埋)、検体スライドの作成 (薄切～染色前処理)、測定 (操作) 方法

詳細は、HER2検査ガイド (p5-8) をご参照ください。

測定方法

詳細は、HER2検査ガイド (p7) を参照してください。

推奨プロトコール

Procedure : U ultraView DAB, U PATHWAY HER2 4B5 (ULTRA/ULTRA PLUS)
 : XT ultraView DAB v3, XT VENTANA HER2 4B5 (XT)
 : BMK ultraView DAB Par, GX VENTANA HER2 4B5 (GX)

染色工程	(新) 推奨プロトコール	
	ベンチマーク ULTRA / ULTRA PLUS	ベンチマーク XT / GX
Baking (ベーキング)	None	None
Deparaffinization (脱パラフィン)	Selected	Selected
Cell Conditioning (熱処理)	CC1 mild	CC1 mild
Enzyme (酵素処理)	None required	None required
Antibody (一次抗体)	36°C, 12min	37°C, 16min
ultraWash (追加洗浄)	Selected	Selected
Counterstain (核染色)	Hematoxylin II, 4min	Hematoxylin II, 4min
Post Counterstain (色出し)	Bluing, 4min	Bluing, 4min

2021年10月より推奨プロトコールが変更になっています

精度管理

染色を行う場合には、必ず同時に精度管理用コントロールスライドの染色を行い、染色操作が適切に行われていることを確認してください。

■陽性対照組織

染色を実施するたびに、患者検体と同じ方法で固定し、処理した陽性対照組織を染色する必要があります。HER2陽性が既知の検体においては、通常組織内には、陽性に対照とする組織は、検体組織とまったく同じ方法で、できる限り速やかに固定・作製した新鮮な剖検／生検／手術検体であれば、組織標本作製から染色まで、すべての工程の確認をすることができます。検体とは異なる方法で固定や処理を行った組織切片を使用した場合、固定と標本作製工程を除き、全試薬と染色工程の確認ができます。わずかな染色性の違いも見逃さないためには、強い陽性染色 (IHC 3+) よりも、弱い陽性染色 (IHC 2+) を呈する組織の方が陽性対照組織として適しています。

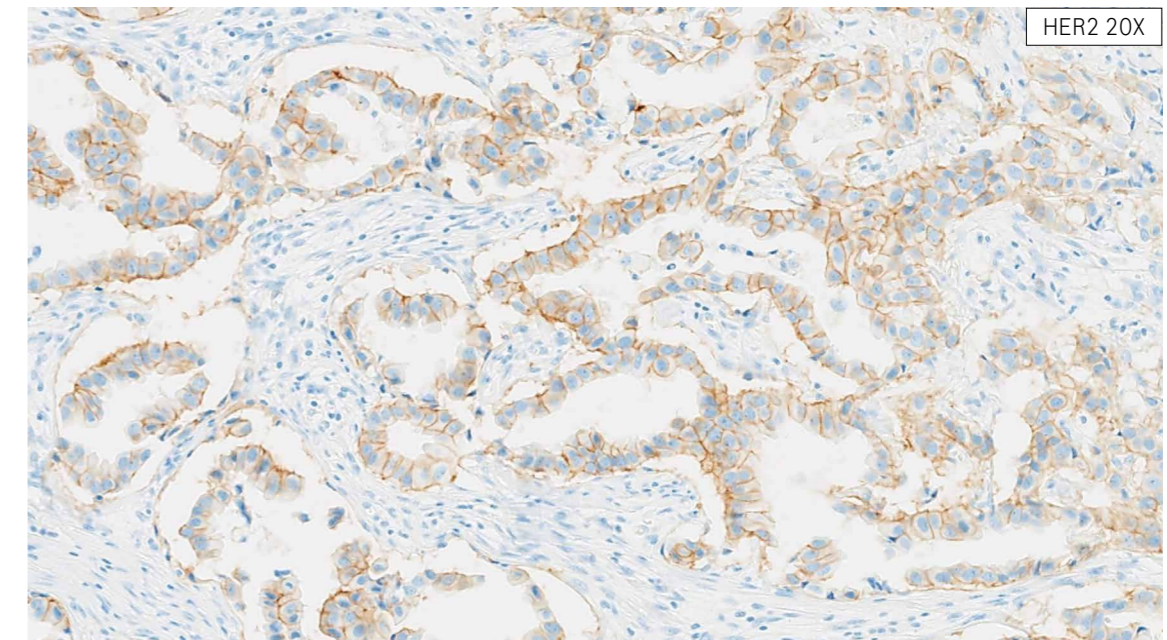
ペンタナ ultraView パスウェーHER2 (4B5) の陽性対照の例として、既知の弱HER2陽性浸潤性乳癌 (乳管癌や小葉癌など) が挙げられます。陽性を呈する組織の構成要素 (新生細胞の膜) は、抗体が用いられ、機器が正しく機能したことを確認するために用いられます。

陽性対照組織は専ら、処理された検体や試薬が正しく働いているかどうかを確認するためのものであり、患者検体を診断する際の補助として利用することはできません。

■陰性対照組織

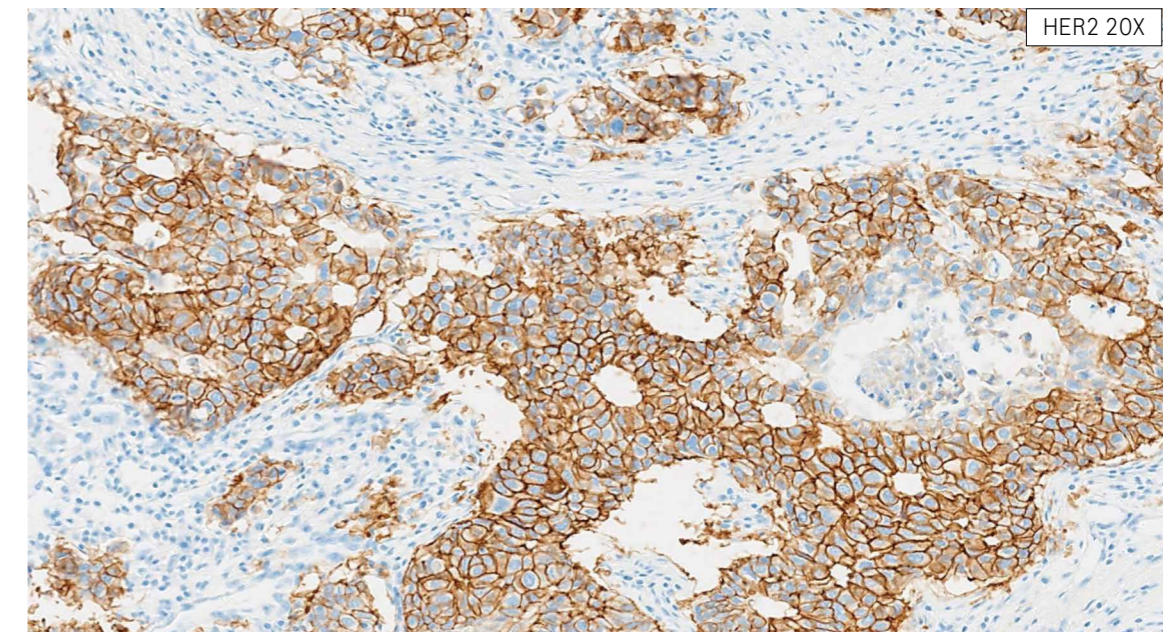
陽性対照組織 (浸潤性乳管癌や浸潤性小葉癌) を陰性対照組織として併用することもできます。染色されない構成要素 (周囲間質、リンパ球および血管) は、特異的な染色は認めず、一次抗体によるバックグラウンド染色の指標となります。ペンタナ ultraView パスウェーHER2 (4B5) による染色性を評価する際には、バックグラウンド染色を確認するために、染色操作のたびに、患者検体と同じ方法で固定、処理された既知の組織を使用し確認してください。

■適切な陽性対照検体



適切な陽性対照組織：弱～中等度の完全な膜染色を示す浸潤性乳癌 (HER2 IHCスコア2+)。弱～中等度の染色強度を呈する浸潤性乳癌組織により、HER2染色に影響を及ぼすおそれがある染色操作の不具合を確認することができる。

■不適切な陽性対照検体



不適切な陽性対照組織：中等度～強い完全な膜染色を示す浸潤性乳癌 (HER2 IHCスコア3+)。この症例は全体的に強く染色されすぎており、染色操作の不具合が発生したことによるHER2染色への微妙な影響を確認することができない。

■動作確認用コントロールスライド:HER2 4 in 1コントロールスライド

HER2 4 in 1 コントロールスライドはHER2発現量が異なる4種類のヒト乳癌細胞株をそれぞれホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) したセルブロックを1枚のスライドガラス上に載せています。機器のメンテナンスや点検、修理後の確認染色の際に使用します。

適切に処理、染色されれば、各細胞株は表1のとおりに染色されます。染色がしかるべきスコアにならない場合は(特に1+および2+の細胞株)、再度染色する必要があります。

表1 HER2 4 in 1 コントロールスライドにおける各細胞株のスコア

HER2 IHCスコア	細胞株	HER2/Chr17比*
0	MDA-MB-231	1.11
1+	T-47D	1.12
2+	MDA-MB-453	2.66
3+	BT-474	5.53

*HER2/Chr17比は、FISH法を用いて確認したHER2 4 in 1コントロールスライド3ロットの平均値です。

■HER2 4 in 1スライドの適切な染色性



細胞株 (MDA-MB-231) は適切に処理されればスコア0と判定される染色性を示します。わずかな膜染色が観察されることもあります。



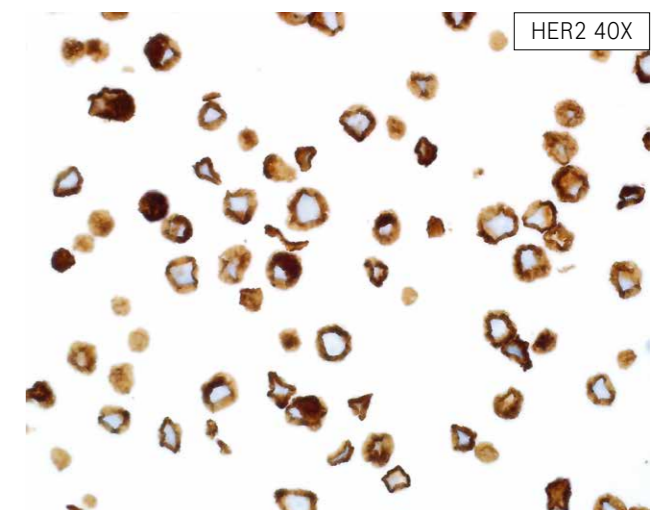
細胞株 (T-47D) は10%を超える細胞に部分的な1+相当の膜染色を認めます。

注: HER2タンパクは細胞の表面に均一に存在するわけではないため、断面のすべてが均一に染色されることはありません。この細胞株を最初に評価する際には領域全体を注意深く観察してください。散在する細胞から1+相当の染色が認められる細胞を探し出すため、倍率を高くして(40倍)確認することが必要になる場合もあります。適切に処理されれば、10%を超える細胞に1+相当の染色性が確認できます。

この細胞株が適切に染色されなければ、染色操作を再度実施する必要があります。



細胞株 (MDA-MB-453) は、10%を超える細胞に、2+相当の全周性の膜染色を認めます。3+と判定される細胞ほど非常に濃い染まりではないものの、2+と判定される細胞には、輪郭がくっきり、はっきりと認められます(右隣の画像と比較してください)。



細胞株 (BT-474) は、10%を超える細胞に3+相当の全周性の膜染色を認めるHER2高発現の細胞株です。

■検査ワークフロー

ベンタナ ultraView パスウェーHER2 (4B5) の評価を行う際には、各症例、3枚の連続切片が必要です。1枚目は、ヘマトキシリン・エオシン (H&E) 染色用、2枚目は陰性コントロール染色用、3枚目がベンタナ ultraView パスウェーHER2 (4B5) 染色用です。H&E染色の評価により、その検体では評価に不適切であるとされた場合は、新たな検体にて、ベンタナ ultraView パスウェーHER2 (4B5) を染色する必要があります。

陽性対照組織：染色工程の妥当性を確認するには、陽性対照組織が適切に染色されなければなりません。染色工程における染色の妥当性を検証するため、弱いHER2陽性であることがわかっている浸潤性乳癌組織 (HER2 IHCスコア2+) が、陽性対照組織として適しています。陽性対照組織が既知のHER2発現結果を示していることにより、適切に処理・染色されたことを確認してください。

陰性対照スライド (NRCスライド)

非特異的な染色がないかどうかを確認し、結果の判定を行うために、すべての検体において適切な陰性コントロール試薬による染色を実施しなければなりません (NRCスライド)。病理医は、ベンタナ ultraView パスウェーHER2 (4B5) (HER2 (4B5) スライド) によって染色したスライドを評価する前に同じ症例のNRCスライドを確認し、特異的な染色がないことを確認しなければなりません。対応するHER2 (4B5) スライドが評価可能と判断されるには、NRCスライドによる染色性が適切である必要があります。非特異的な染色があれば、びまん性の染色を呈します。過固定された組織ではそのほか、結合組織に散在性のうすい染色が観察されることもあります。NRCスライドにて非特異的に染色されることが多い細胞 (壊死した細胞や変性した細胞) は、HER2 (4B5) スライドでも非特異的な染色が認められる傾向にあり、結果の判定からは除外してください。

HER2 (4B5) 染色スライド

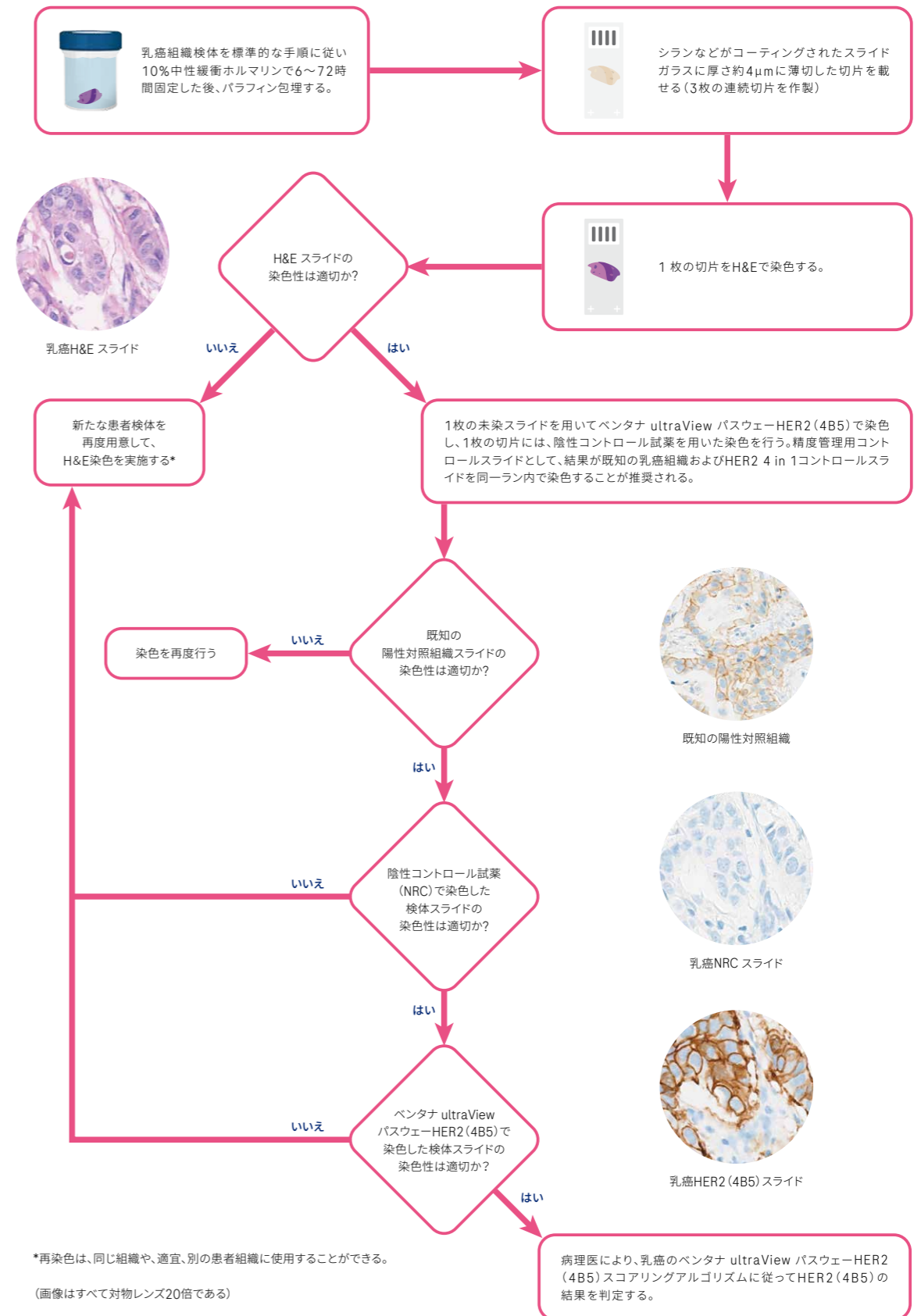
表2の基準に従って各HER2 (4B5) スライドの組織形態ならびに、バックグラウンド染色の有無を判断します。バックグラウンド染色はFFPE組織の非特異的な染色と定義されます。HER2 (4B5) スライドを観察し、染色の全体的な適正を判定する必要があります。染色が合格基準を満たさない理由として、アーチファクト、組織の質の不良、組織の剥がれが考えられます。染色性が合格基準を満たさないスライドにおいてスコアを付けてはなりません。予備のスライド、または、可能であれば別のブロックを使用して再染色を実施する必要があります。

表3 (P12) に定めたスコアリングアルゴリズムに従い、HER2 (4B5) スライドの各々にHER2 IHCスコア (0、1+、2+、3+) を付けます。染色結果の判定には、壊死した細胞や変性した細胞は非特異的な染色を示すことが考えられるため、対象としてはなりません。判定対象からは除外する必要があります。

表2 ベンタナ ultraView パスウェーHER2 (4B5) の形態とバックグラウンドの適/不適

	適切	不適切
形態	対象とする細胞が観察されており、形態学的診断が可能	対象とする細胞が観察されておらず、形態学的診断が困難
バックグラウンド	バックグラウンド染色によって、判定が妨げられない	バックグラウンド染色により、染色の判定が損なわれる

■検査フロー



染色結果の判定

■染色の特徴

乳癌におけるベンタナ ultraView パスウェーHER2 (4B5) による免疫組織化学染色 (IHC) では、細胞膜および細胞質に染色を認めます。ベンタナ ultraView パスウェーHER2 (4B5) によって検出された結合物は、酵素反応により茶褐色 (DAB) に染色されます。

HER2タンパクは正常なヒト組織と腫瘍性のヒト組織の両者の細胞膜に発現しています。Pressらは、凍結組織切片などを用いて、標識された抗HER2抗体を使用し、消化管、気道、生殖系および尿路のほか、皮膚、乳房および胎盤における正常な上皮細胞に弱い染色を認めることを報告しています¹⁰。Taylorらは異なる抗HER2抗体を使用し、HER2タンパクの細胞質への染色を確認しましたが、乳癌に検出されるHER2 mRNAの存在とは無関係であると結論づけています¹¹。細胞質のみの染色に臨床的な意味があることは確認されていません¹¹。

浸潤性乳管癌の15%～30%では、強いHER2陽性の免疫組織化学染色が認められます。約40%はIHC陰性であり、それ以外がHER2低発現です¹⁰。

■染色様式と強度

乳房組織切片にて、ベンタナ ultraView パスウェーHER2 (4B5) による細胞膜への染色のパターンと強度を (全周性かどうかを含めて) 確認する必要があります。染色がまったく認められなければ、その症例はIHC 0とスコアリングし、部分的かつ不完全な膜染色は、染色が認められた腫瘍細胞の割合 (%) に応じてIHC 0ないしIHC 1+とスコアリングします。全周性の細胞膜への染色はIHC 2+ないしIHC 3+とスコアリングします。IHC 0とIHC 1+を鑑別するため対物40倍以上で、確認が必要になることもあります。染色された腫瘍細胞の割合 (%) を確認する際には、細胞質や核のみへの染まりは除外します。

HER2シグナルは均一に分布し、腫瘍全体に一定のパターンと強度を示すこともあれば、分布が不均一で、さまざまな強度を示すこともあります。染色が不均一である場合は、それぞれ異なるシグナル強度とシグナルパターンで染色された細胞の相対的な割合 (%) を視覚的に推定してHER2 IHCスコアリングをします。陰性コントロールウサギモノクローナル抗体用 (518-111182) は、検体のバックグラウンド染色の有無を確認し、染色強度のベースラインを確認するために使用されます。

非特異的なバックグラウンド染色は、びまん性の染色性を示します。過固定された組織切片では、結合組織に散在性の弱い染色が観察されることもあります。また、壊死した細胞や変性した細胞は非特異的な染色が多いため、染色結果の判定からは除外する必要があります。

■スコアリングアルゴリズム (2023年5月改訂)

乳癌組織におけるベンタナ ultraView パスウェーHER2 (4B5) 染色の評価

乳癌における判定に際しては、各施設にて専門医と相談の上、学会等の推奨する判定基準に従ってください。ベンタナ ultraView パスウェーHER2 (4B5) の染色の際は一次抗体として、ベンタナ パスウェーHER2 (4B5) (518-107918) のほか、陰性コントロールウサギモノクローナル抗体用 (518-111182) を使用して各症例を染色します。ベンタナ ultraView パスウェーHER2 (4B5) によって染色された乳癌細胞にて、DABシグナルの有無を確認します。適切なNRCで染色されたスライドは、非特異的なバックグラウンド染色の確認や、ある特定の要素が起因して発生するバックグラウンド染色を確認するために使用します (以下の症例画像を参照)。

注：ベンタナ ultraView パスウェーHER2 (4B5) キットはベンタナultraViewDABユニバーサルキットとの組み合わせによってのみ、体外診断用医薬品として承認されています。

表3 乳癌におけるベンタナ ultraView パスウェーHER2 (4B5) 染色の判定方法

HER2 (4B5) スコア	染色パターン
0 ¹	膜染色が認められない または ≤10%の腫瘍細胞にかすかな/かろうじて認識できる不完全な膜染色が認められる
1+ ¹	>10%の腫瘍細胞にかすかな/かろうじて認識できる不完全な膜染色が認められる
2+ ²	>10%の腫瘍細胞に弱/中等度の全周性の膜染色が認められる
3+	>10%の腫瘍細胞に強い完全な全周性の膜染色が認められる

注釈:この定義ではまれな染色パターンはカバーされておらず、そのような場合、日常診療ではIHC 2+と判断すべきである。まれな染色パターンの例として、中等度から強度の染色だが不完全 (basolateral または lateral) な膜染色でHER2遺伝子増幅がみられる場合や、強い完全な全周性の膜染色が10%以下の領域にみられる場合、がある。

1 不完全およびかすかな/かろうじて認められる染色を識別するために対物40倍で確認することが推奨されます。

2 ASCO/CAPガイドラインに従い、遺伝子増幅を確認するリフレックステストが推奨されます。

HER2陽性の判定は、腫瘍細胞の細胞膜における染色性およびその染色強度を対象とし、細胞質における反応は判定対象外とします。腫瘍領域全体を確認し、染色強度のほか、腫瘍細胞膜への染色性 (全周性) を判定します。腫瘍細胞への全周性の膜染色は IHC 2+ないしIHC 3+とスコアリングします。膜の不完全な染色は、HER2染色を認める腫瘍細胞の割合 (%) に応じてIHC 0ないしIHC 1+とスコアリングします。スコア IHC 0とIHC 1+、あるいは、スコアIHC 1+とIHC 2+を鑑別するため、倍率を高くして境界例を確認することが必要になることもあります。IHC 2+と判定される染色には、くっきり、はっきりした膜染色を認め、IHC 3+と判定される症例は強度の強い明瞭な膜染色を示します。

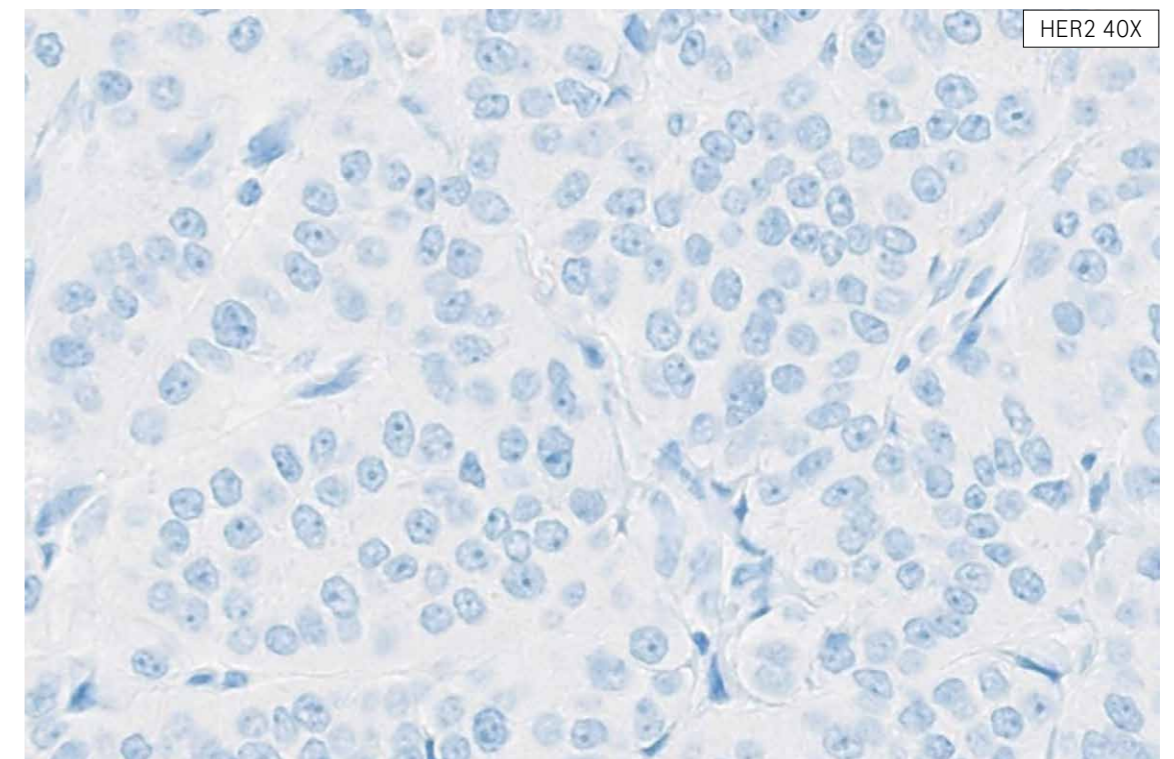
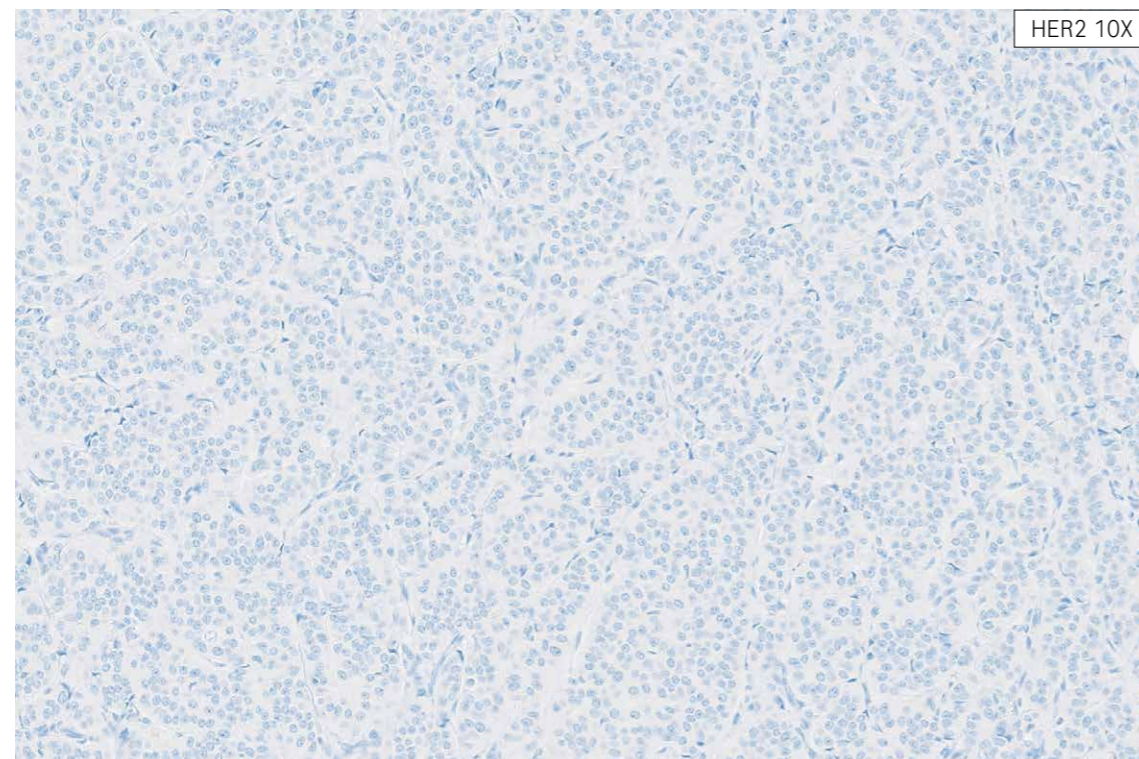
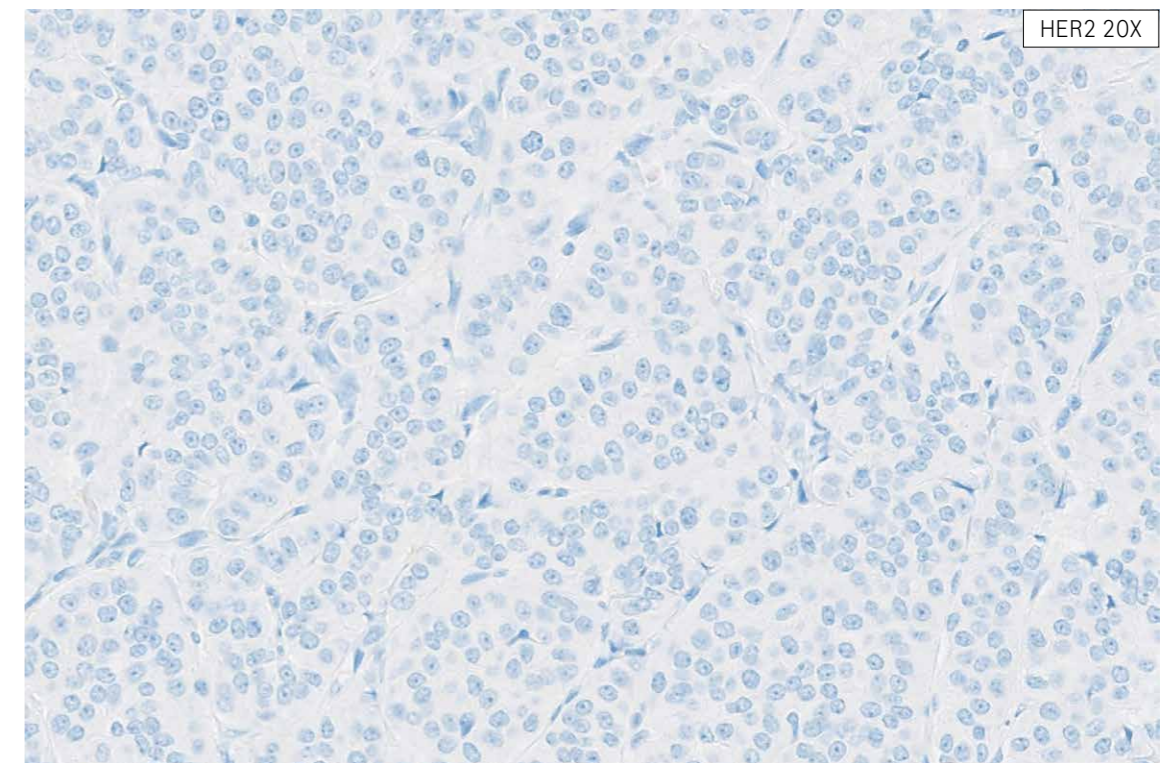
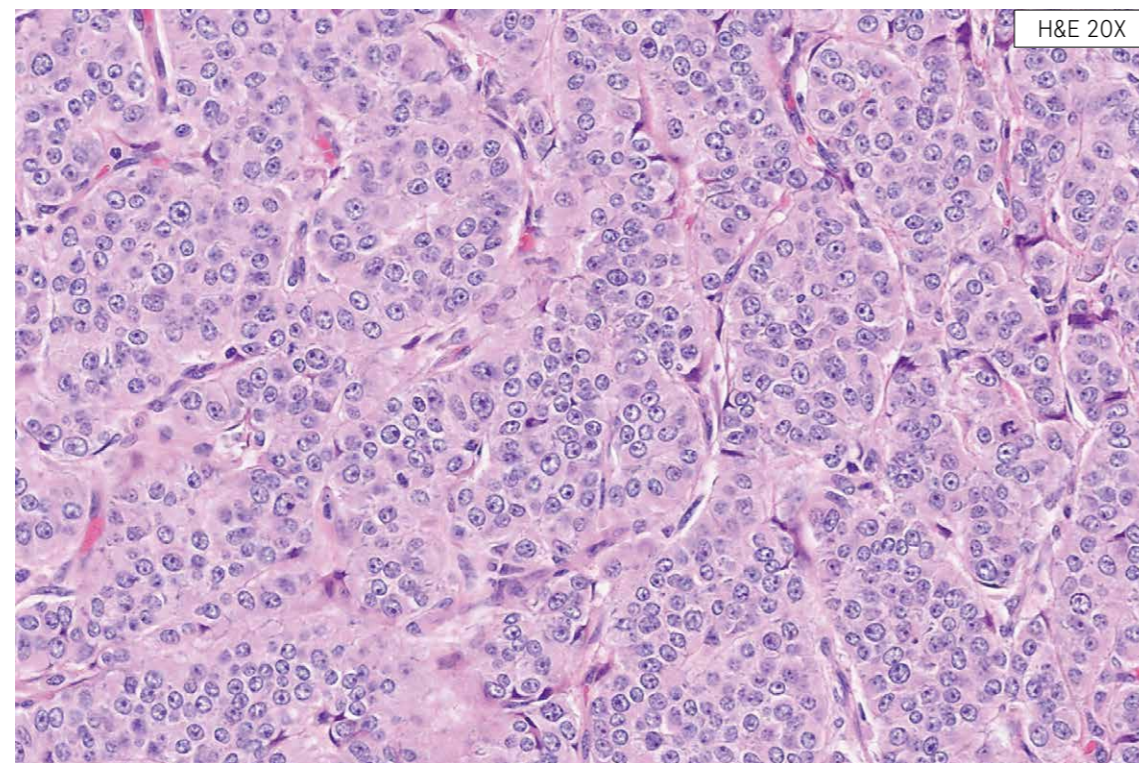
参考症例セクションでは代表的な症例を取り上げています。

参考画像

■参考症例

HER2 IHCスコア0

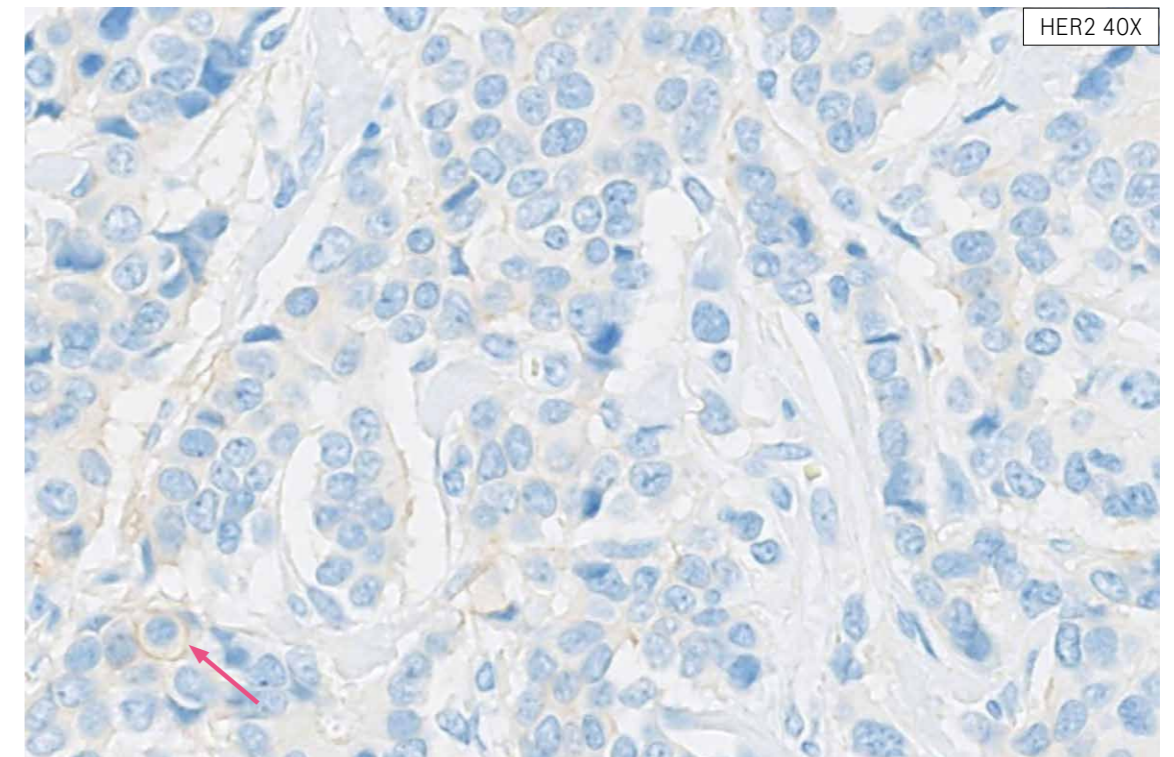
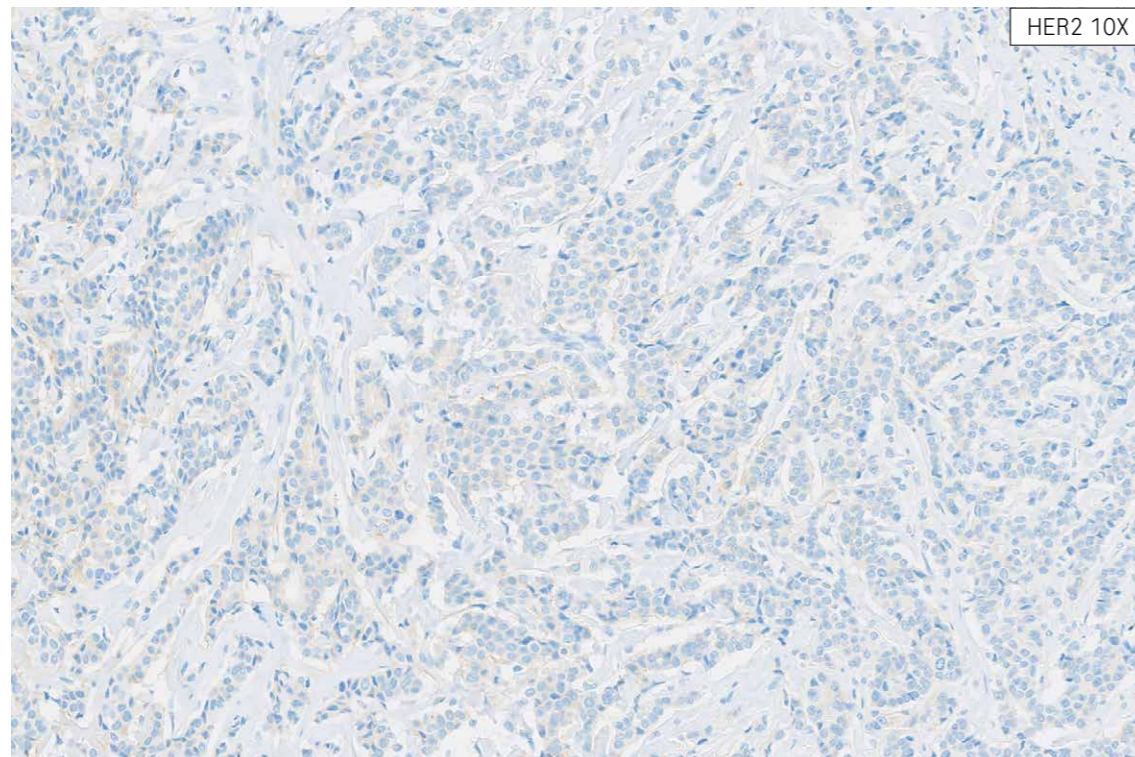
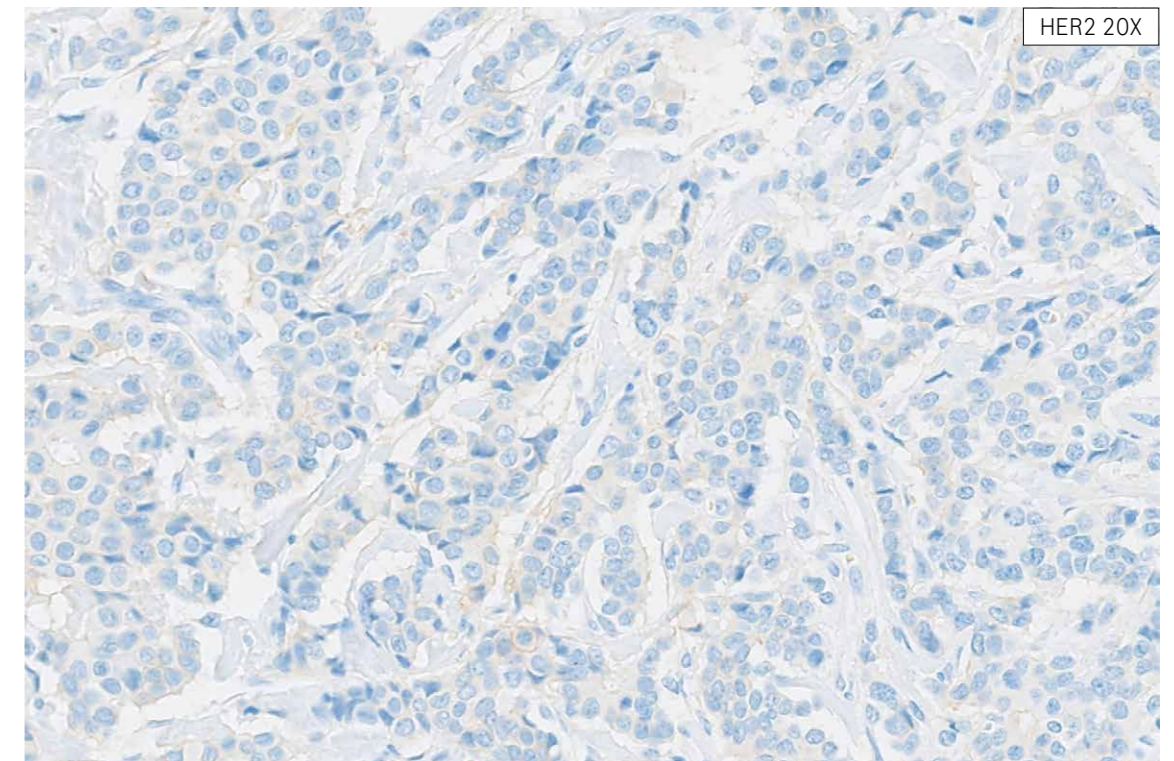
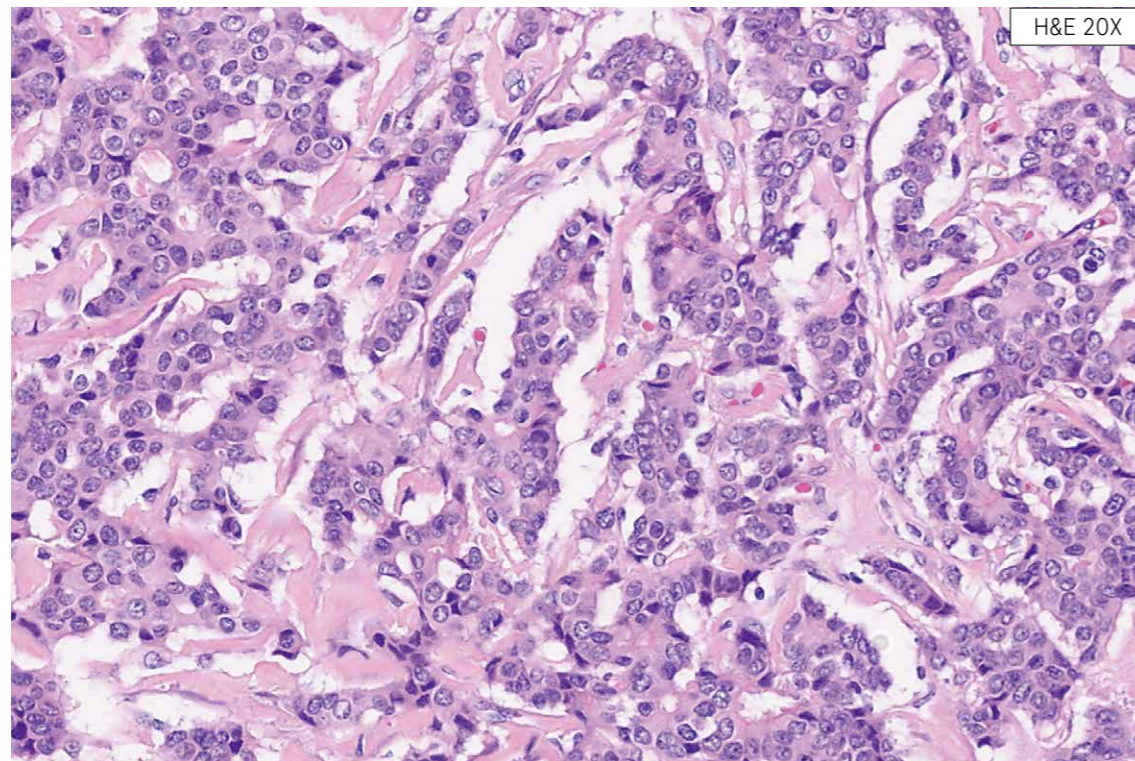
症例1: 膜染色を示さない多くの腫瘍細胞が認められる (HER2 IHCスコア0)。



■参考症例

HER2 IHCスコア0

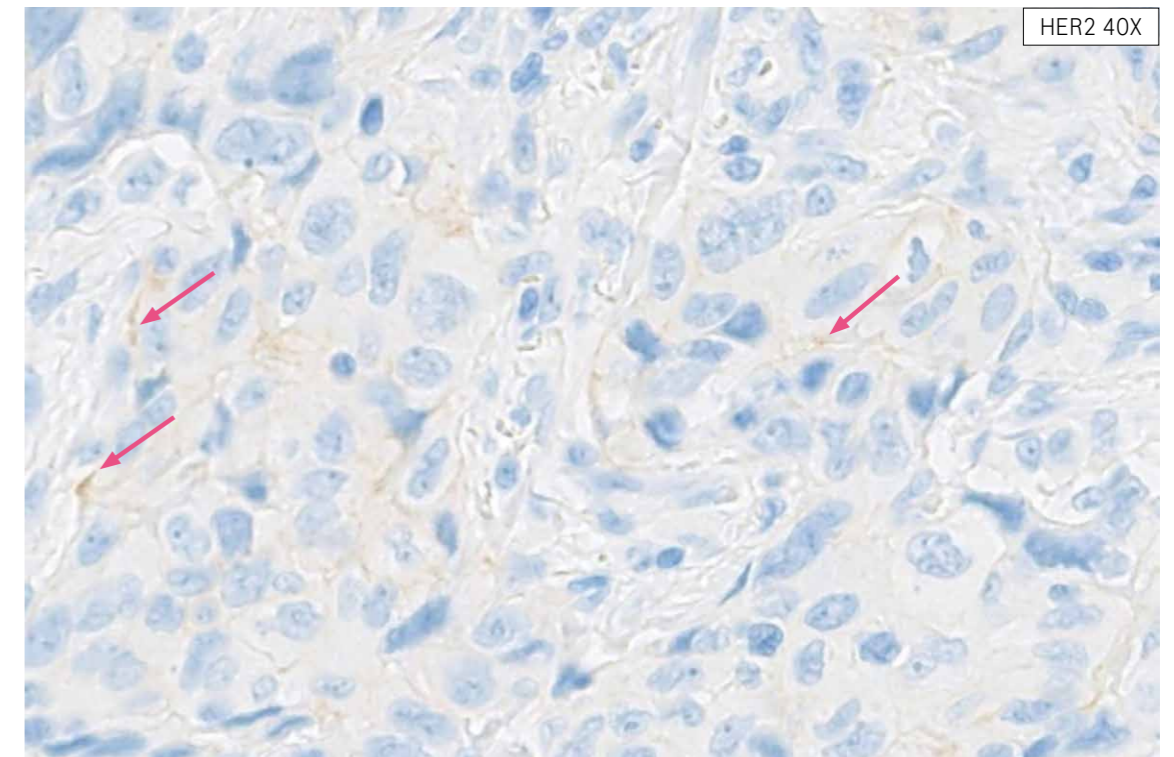
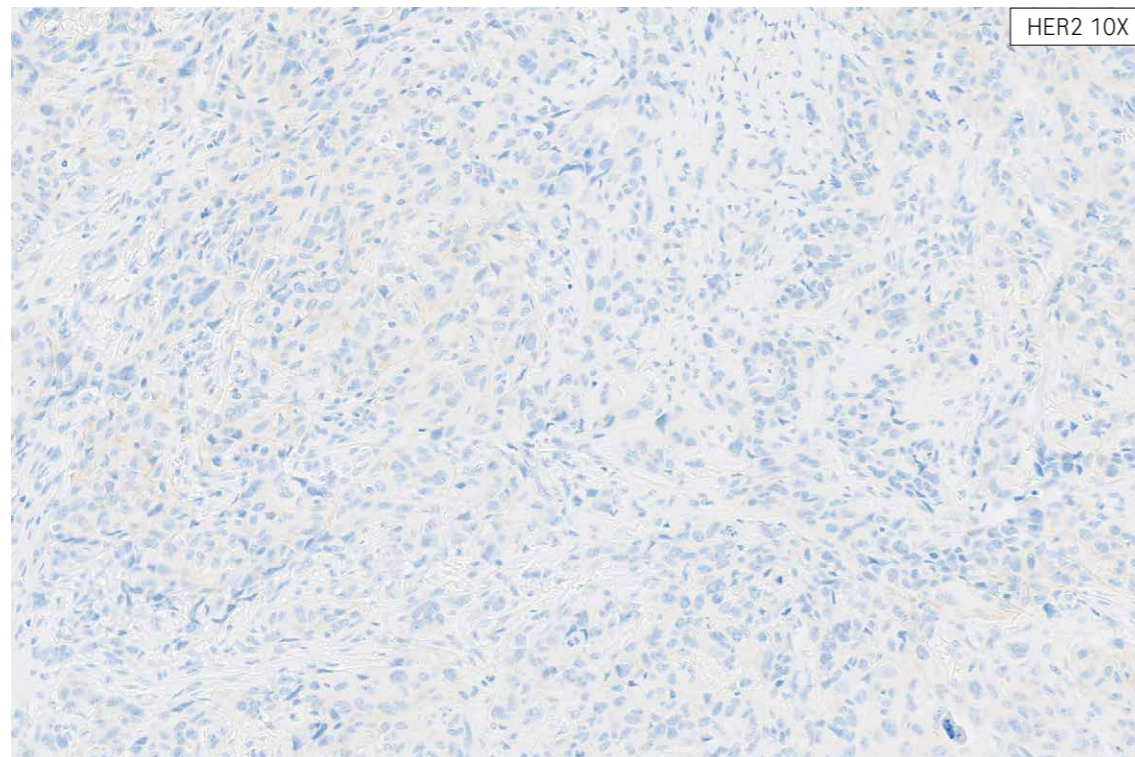
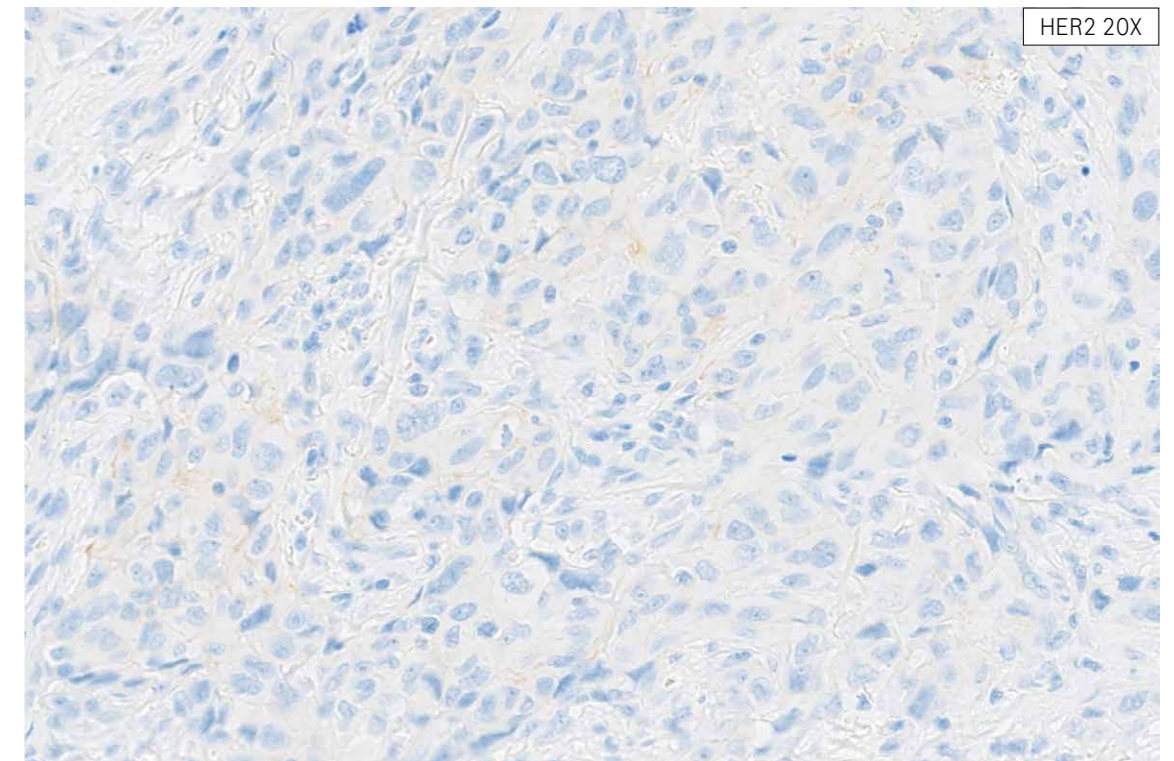
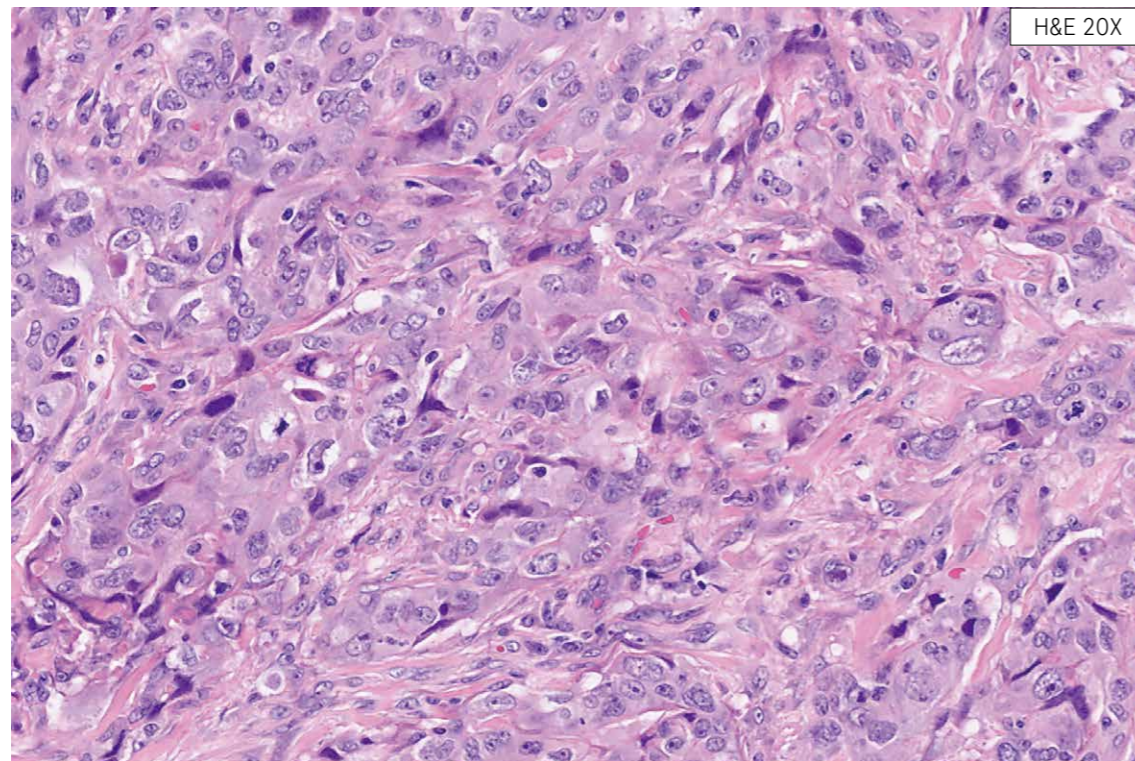
症例2：細胞質に染色が認められ、かすかな～弱い膜染色との識別が困難になっており、対物40倍での観察が必要である。腫瘍細胞の周りの空洞に沿った染色が観察される(矢印)。HER2スコアリングの対象には含めない。この症例は1%にかすかな～弱い膜染色を示し、HER2 IHCスコア0と判定された。



■参考症例

HER2 IHCスコア0

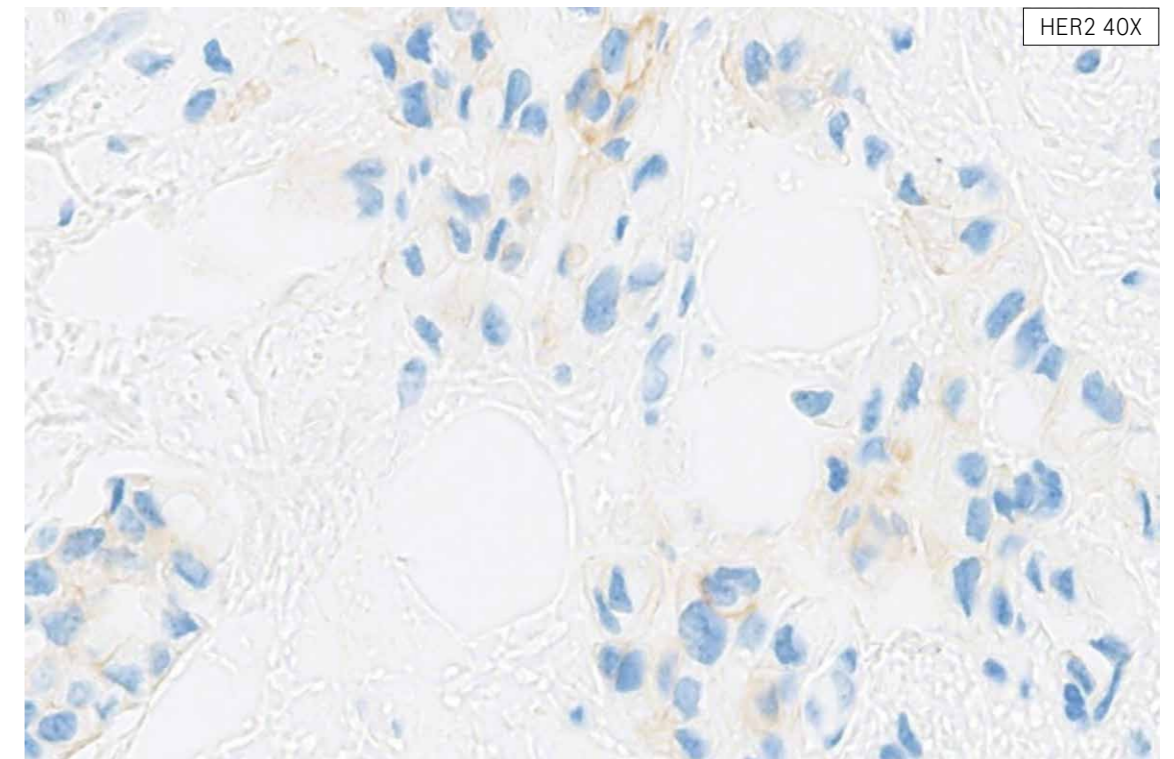
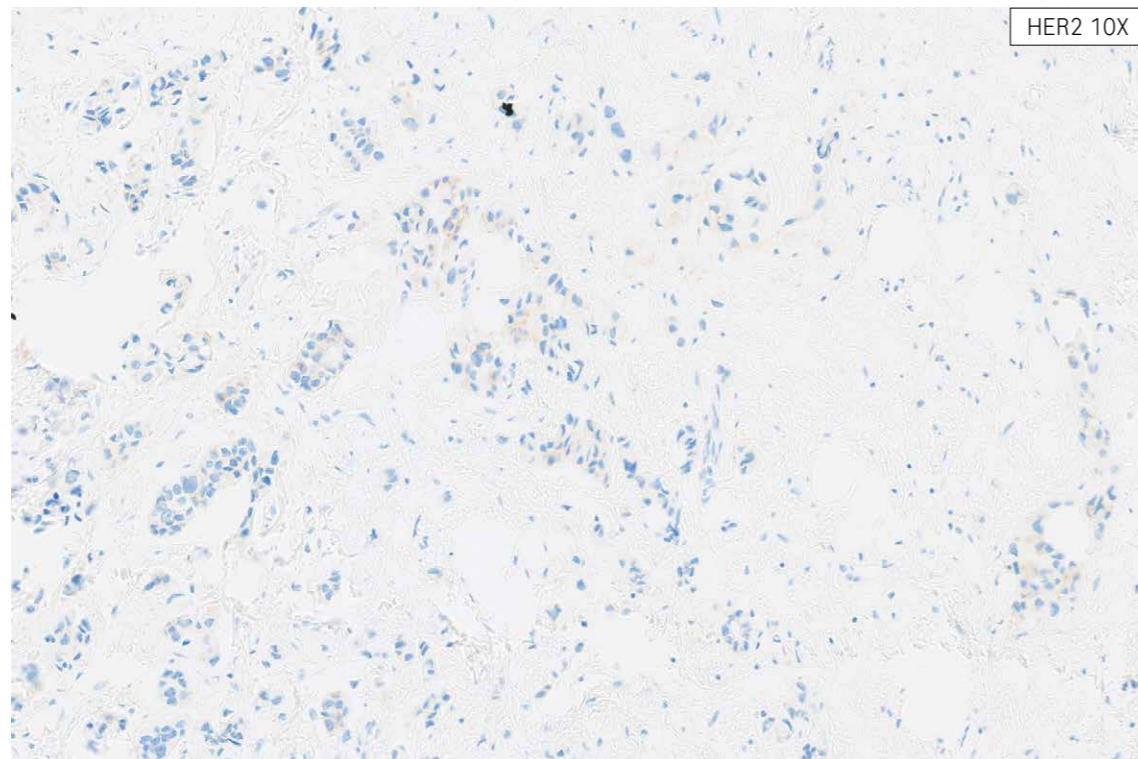
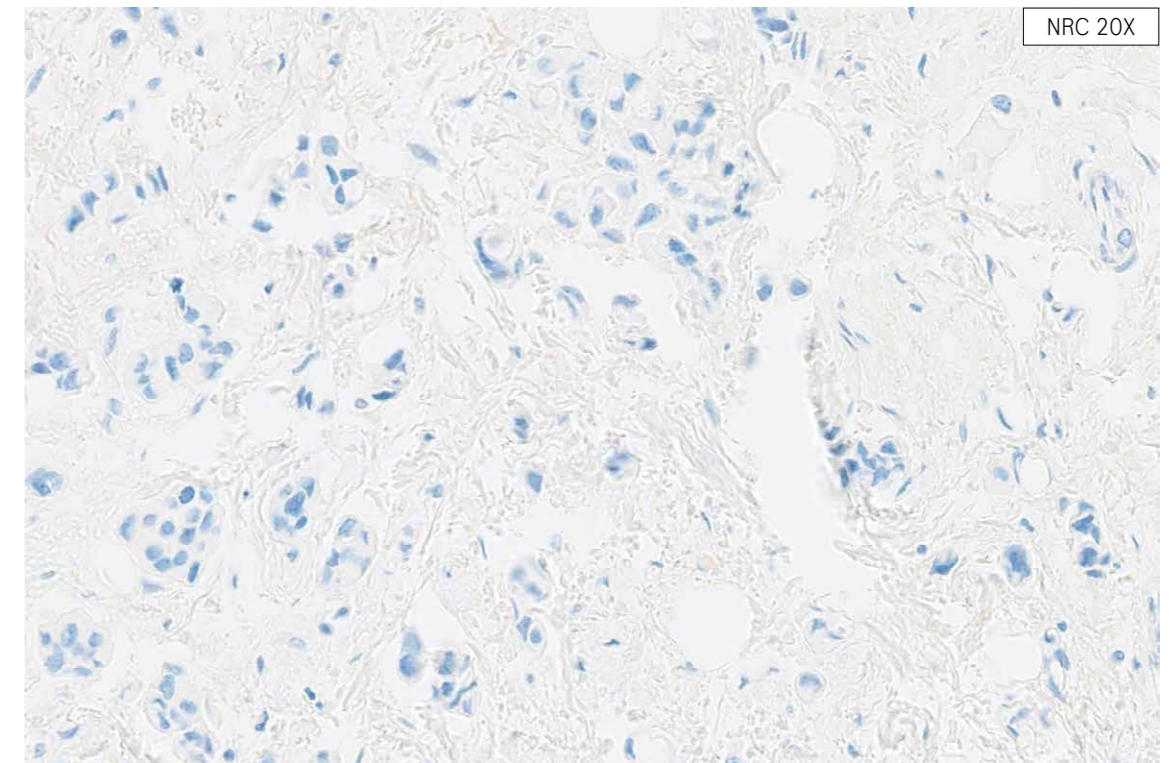
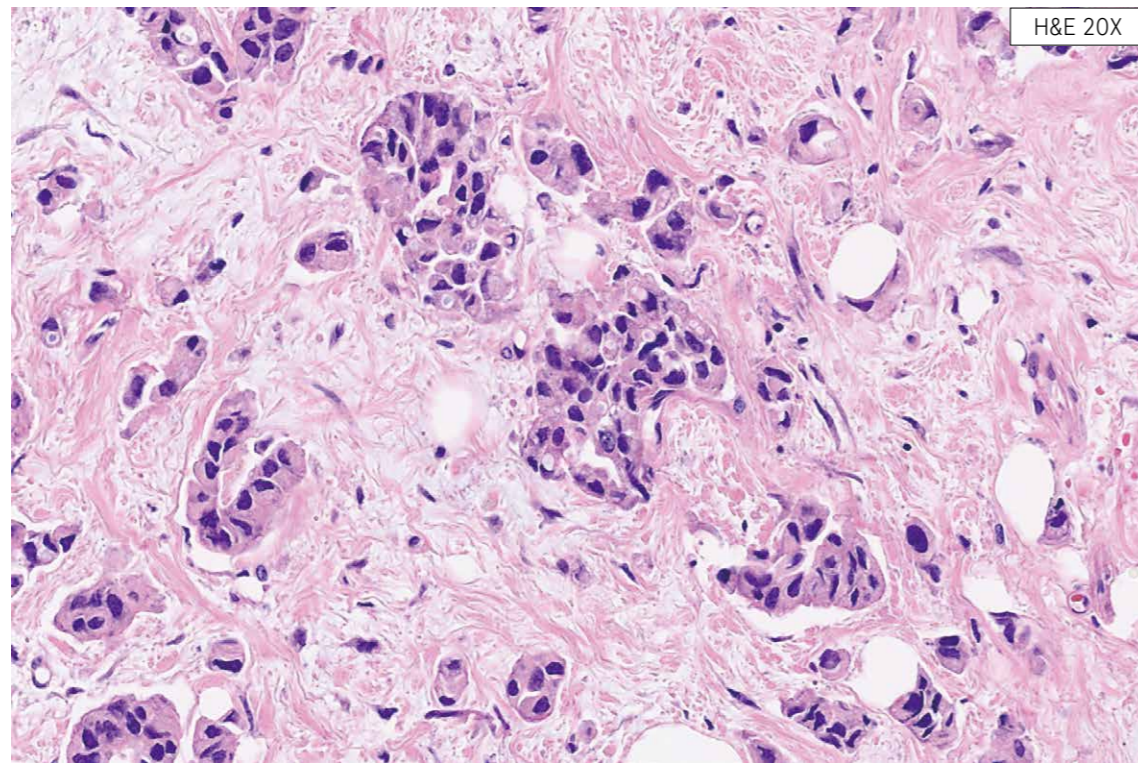
症例3：ところどころに壊死を伴う腫瘍が認められる。腫瘍細胞の細胞質に染色を認め、かすかな～弱い膜染色の識別が困難になっている。壊死を伴う腫瘍細胞の染色はHER2スコアリングの対象には一切含まない。腫瘍細胞がかすかな～弱い膜染色を示すこともある。(矢印)この症例は3%に部分的なかすかな～弱い膜染色を呈し、HER2 IHCスコア0と判定された。



■参考症例

HER2 IHCスコア0

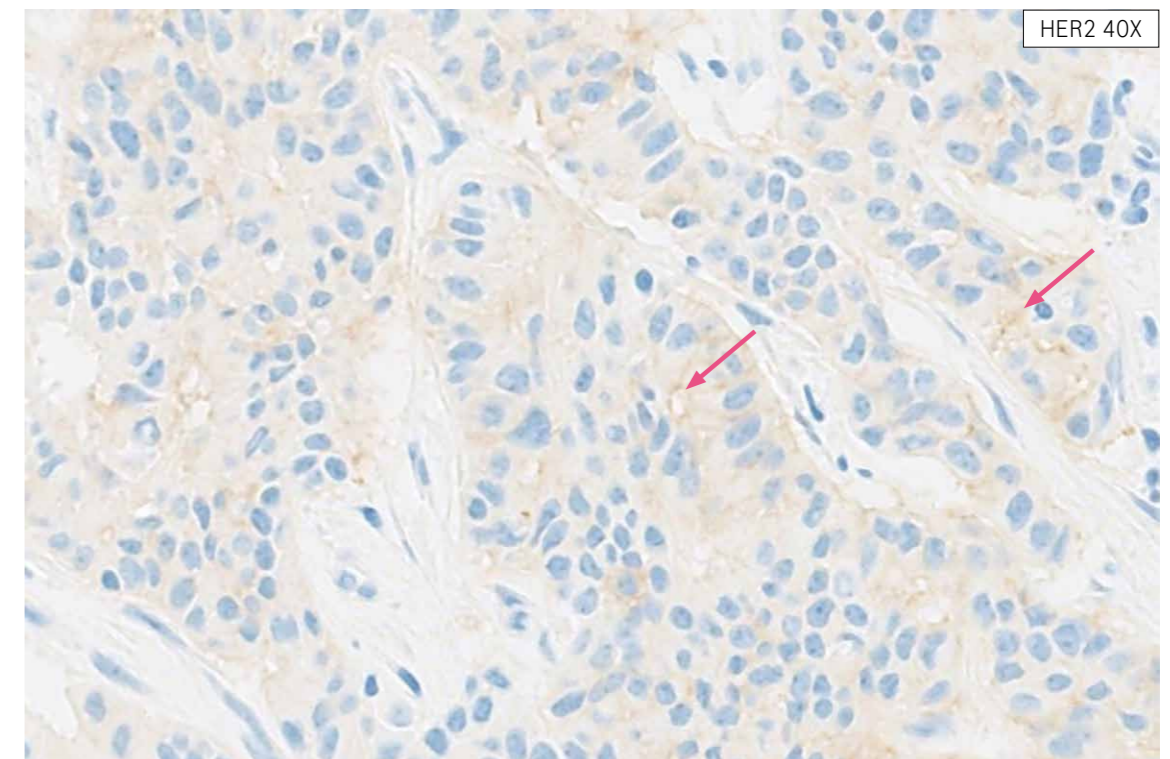
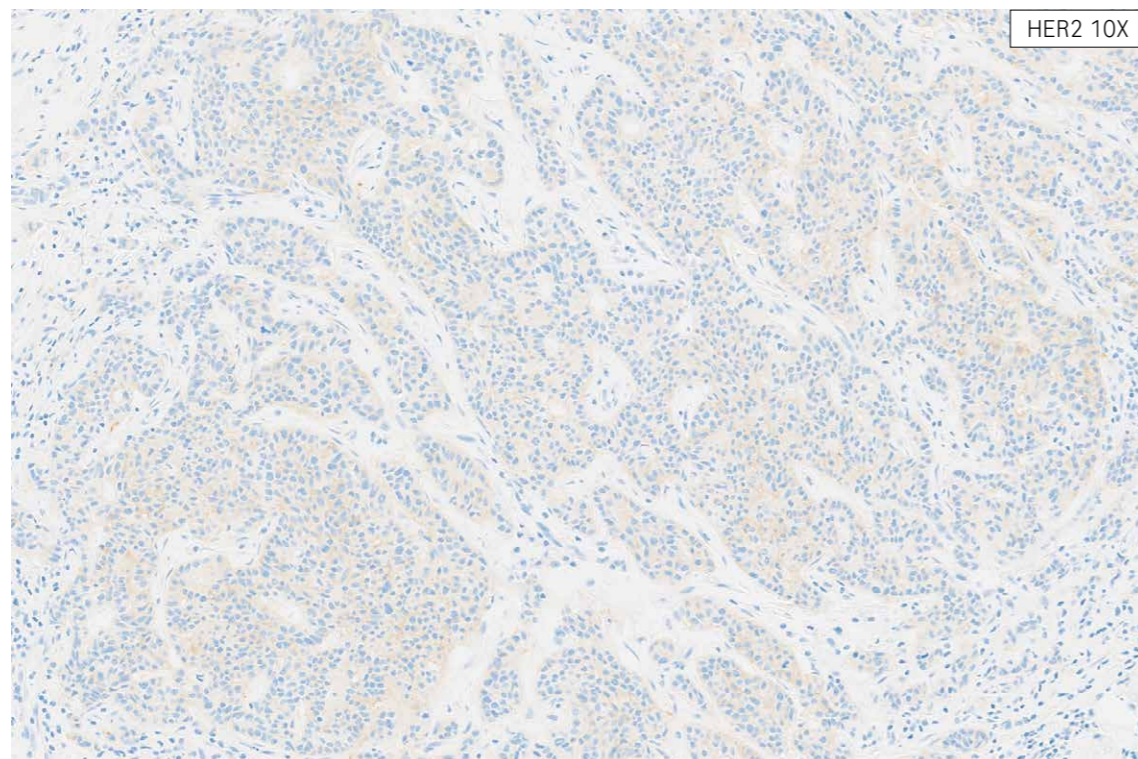
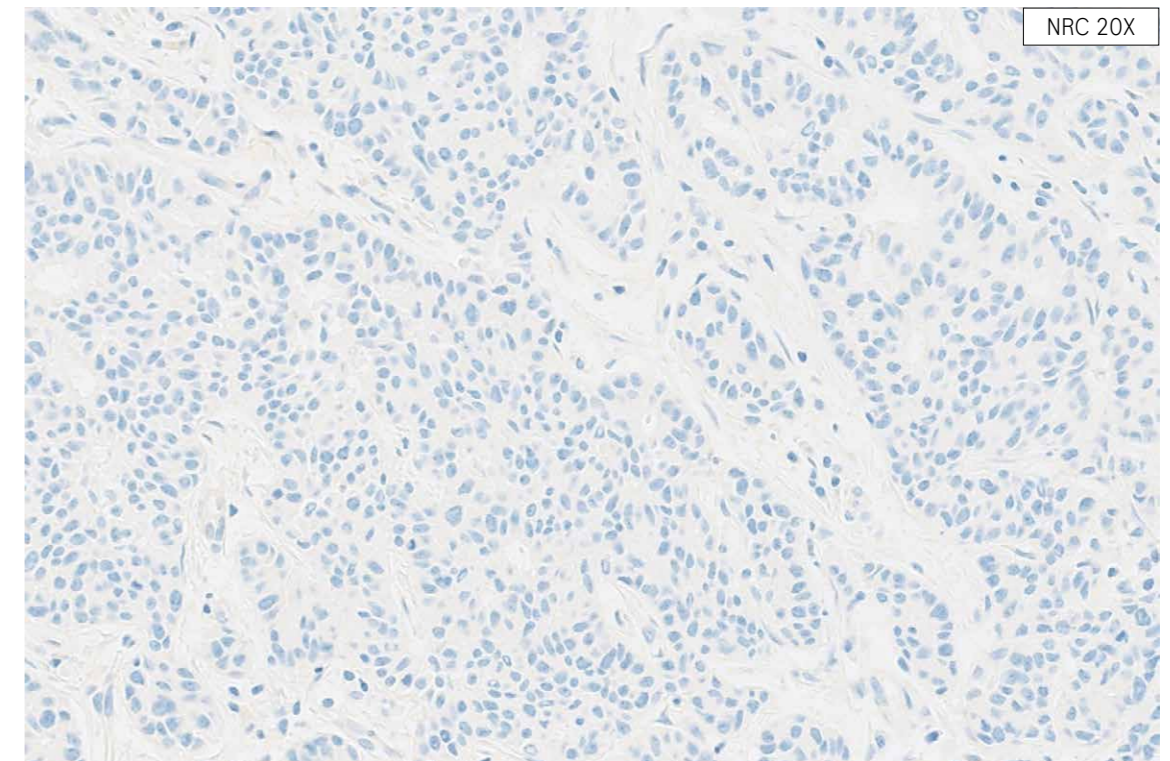
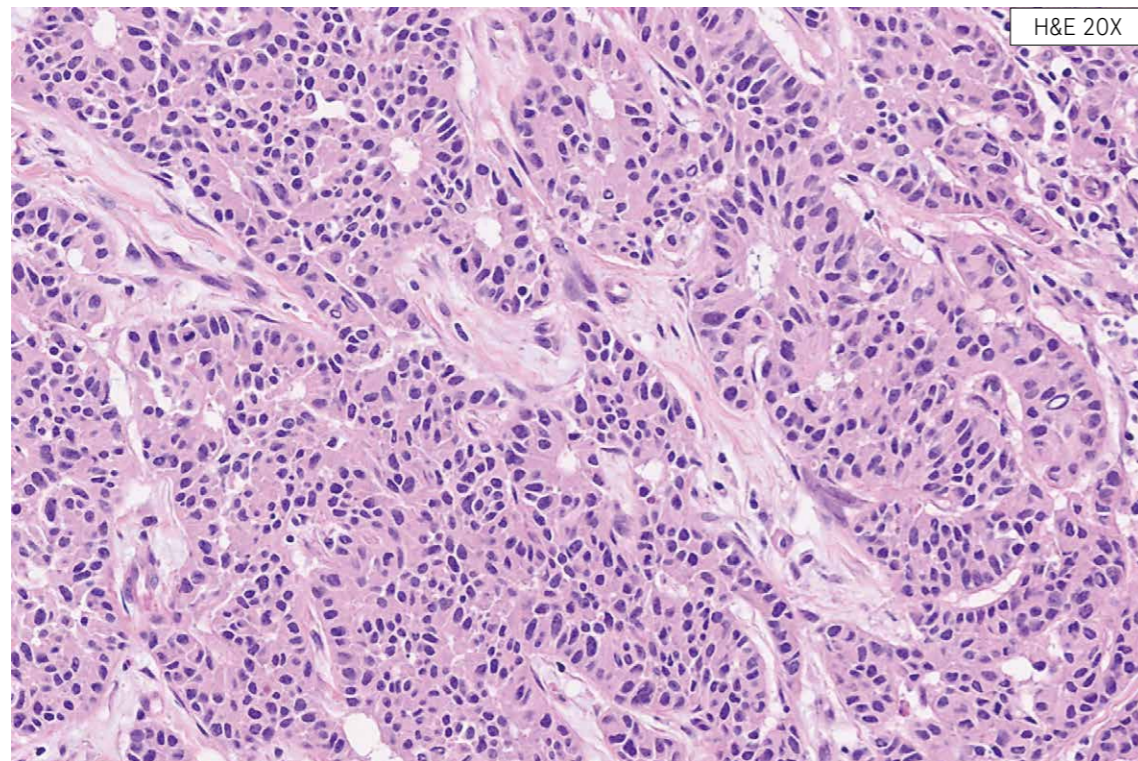
症例4：裂隙形成 (retraction artifact) を伴う多くの浸潤性腫瘍が認められる。散在する腫瘍細胞に不完全なかすかな～弱い膜染色のほか、ところどころに細胞質にも染色を認める。20倍で示されたNRCは、細胞質に染色を認めない。腫瘍細胞の底面 (縁) に沿ってのみ認められる染色はスコアリングの対象に含めない。スコアリングの対象に含めるには腫瘍細胞の側面に沿って染色を認めなければならない。この症例は4%に不完全なかすかな～弱い膜染色を呈し、HER2 IHCスコア0と判定された。



■参考症例

HER2 IHCスコア0

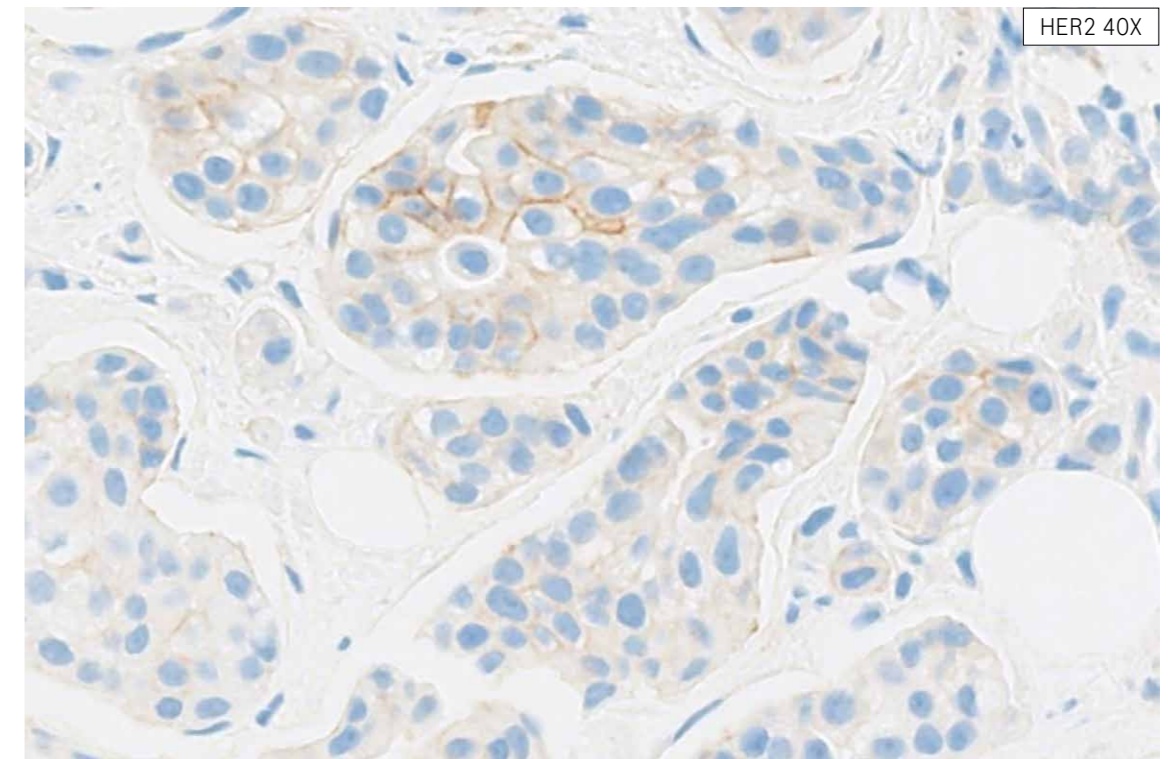
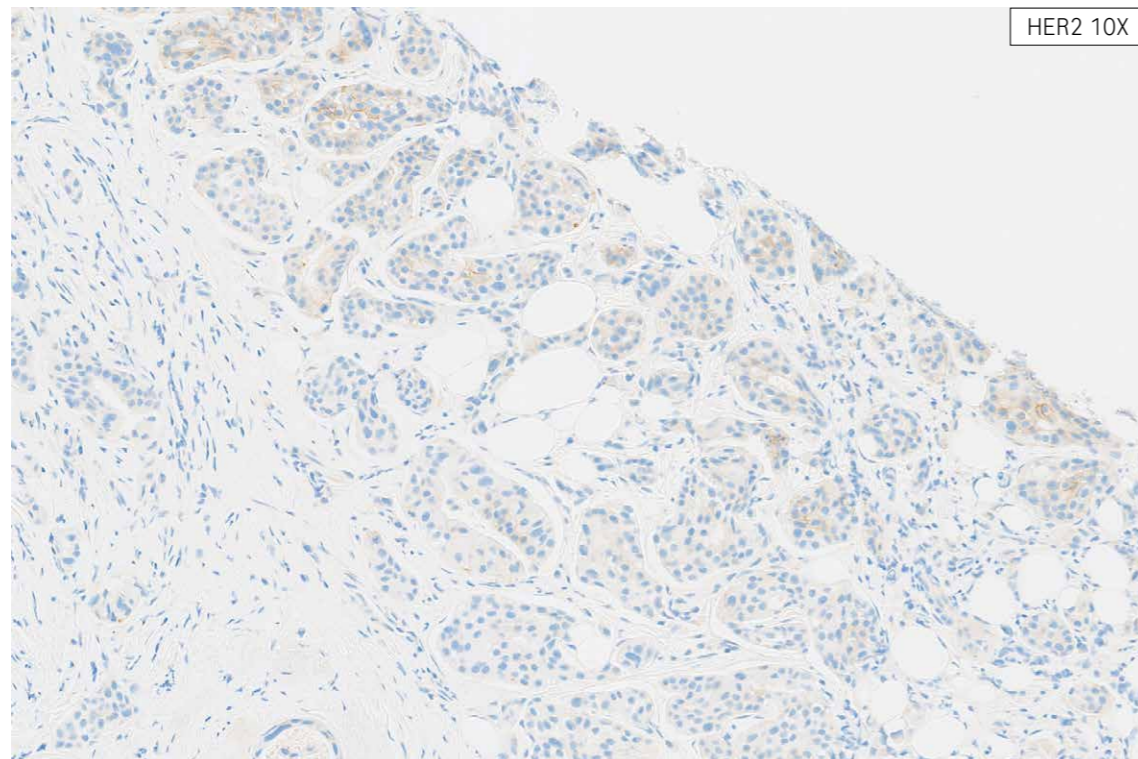
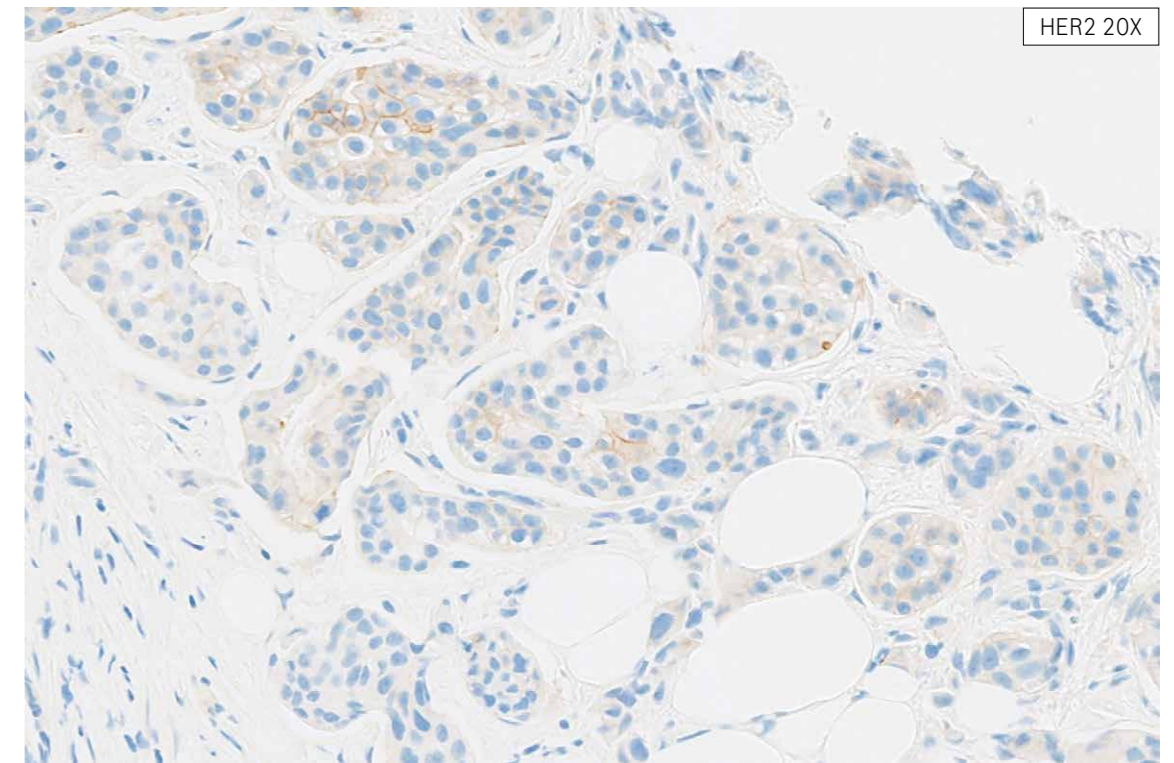
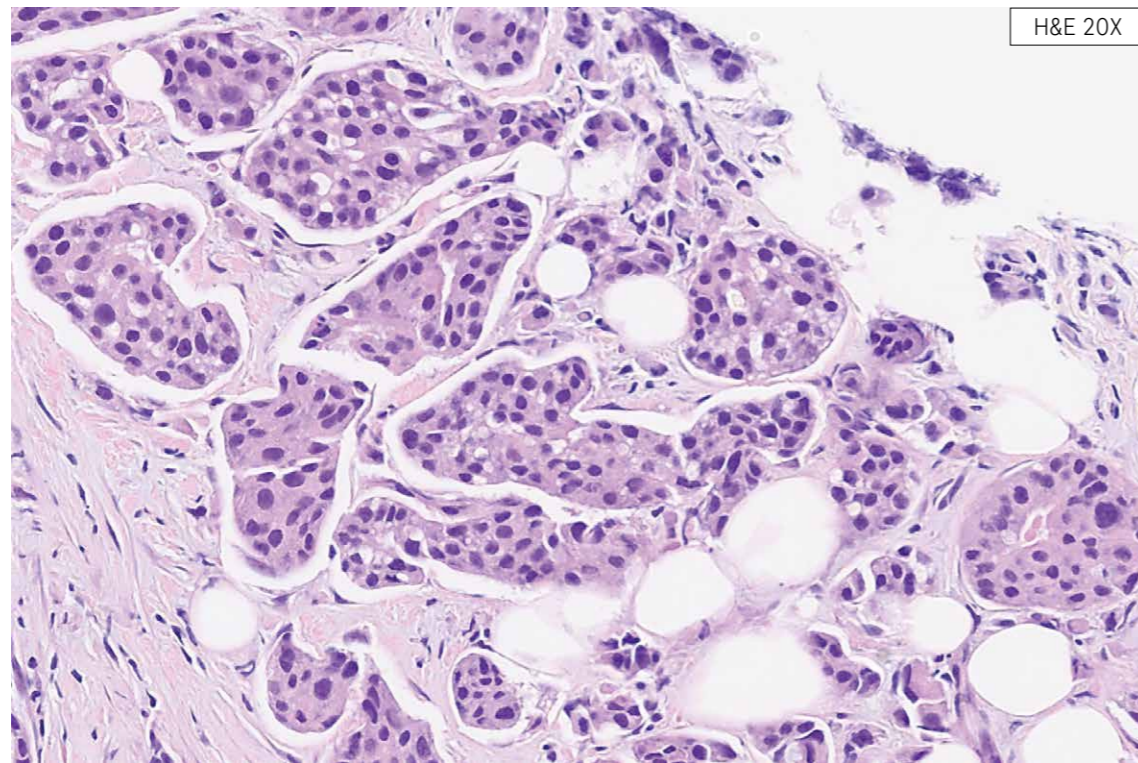
症例5: 大きな組織切片に大きな浸潤性腫瘍を認める。散在性に不完全なかすかな～弱い腫瘍細胞の膜染色が確認できる。20倍で示したNRCの細胞質に染色は認めない。空隙に沿って染色を認めるが、腫瘍細胞の側面まで沿った膜染色を確認できる場合のみスコアリングの対象に含める。(矢印)この症例は8%に不完全なかすかな～弱い膜染色を呈し、HER2 IHCスコア0と判定された。大きな組織切片にHER2染色をところどころにみられるため、割合(%)を推定するのが困難である。割合(%)がHER2 IHCスコア1+とのカットオフ値に近いことから判定が難しい症例である。



■参考症例

HER2 IHCスコア0

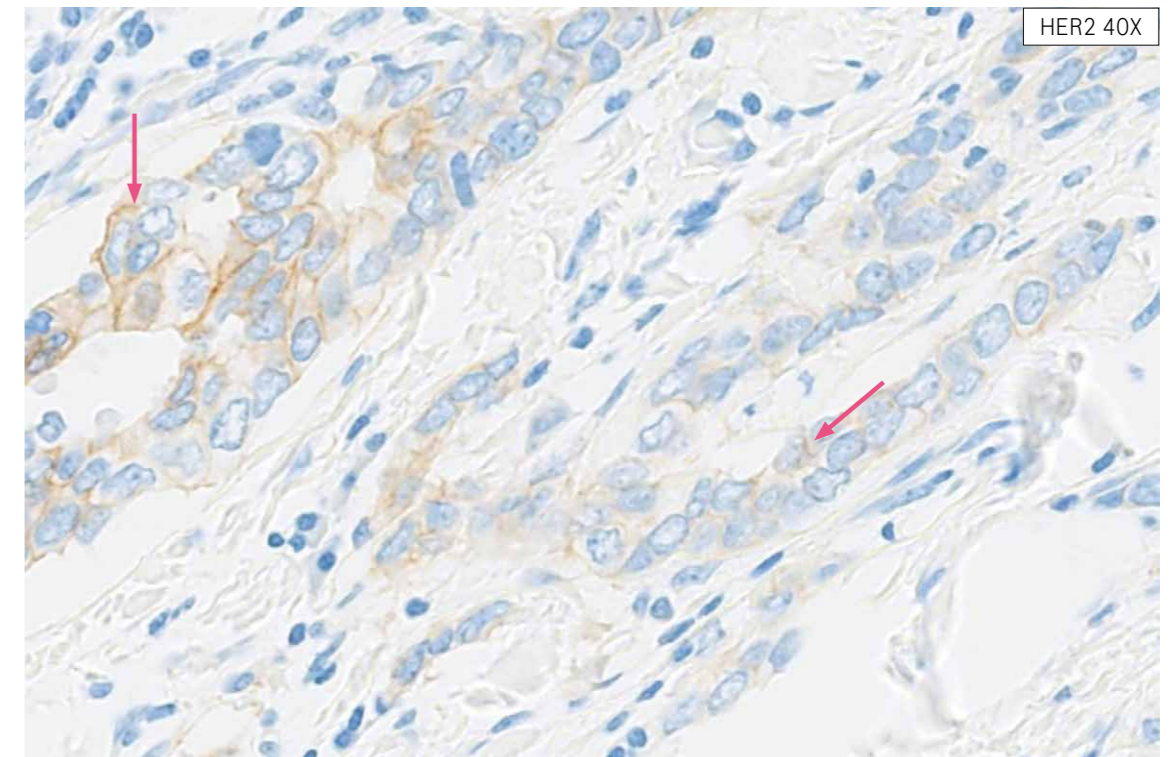
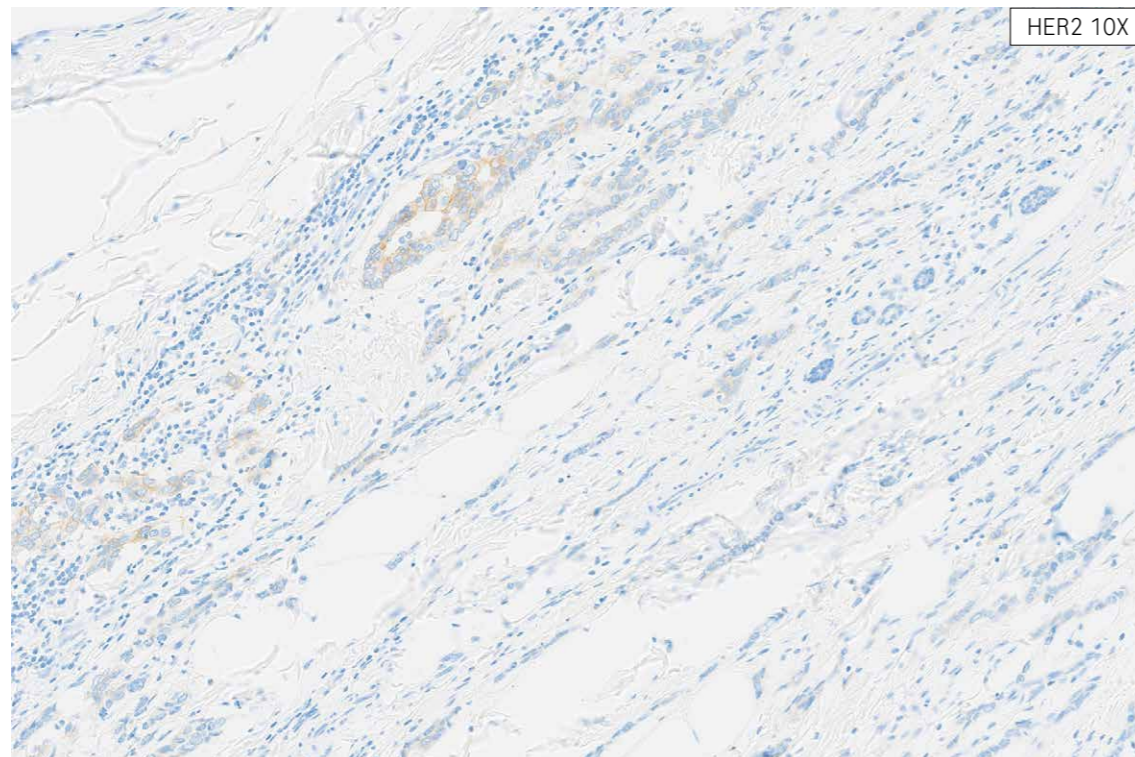
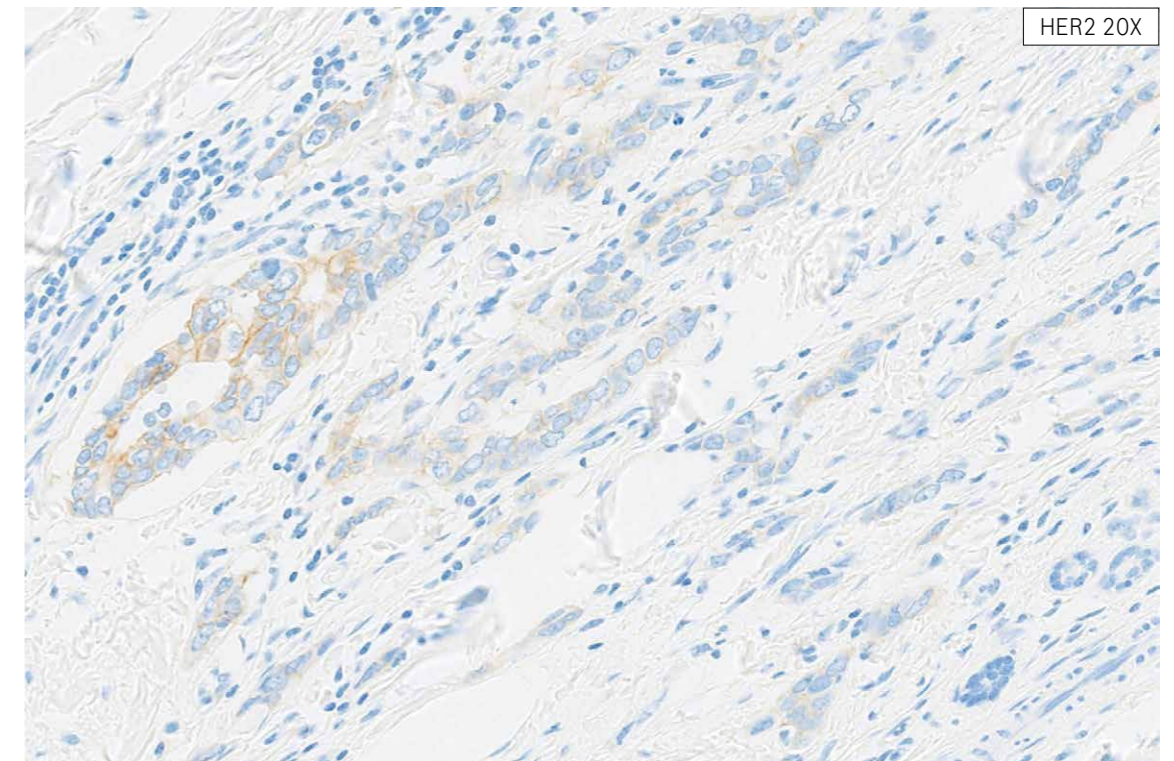
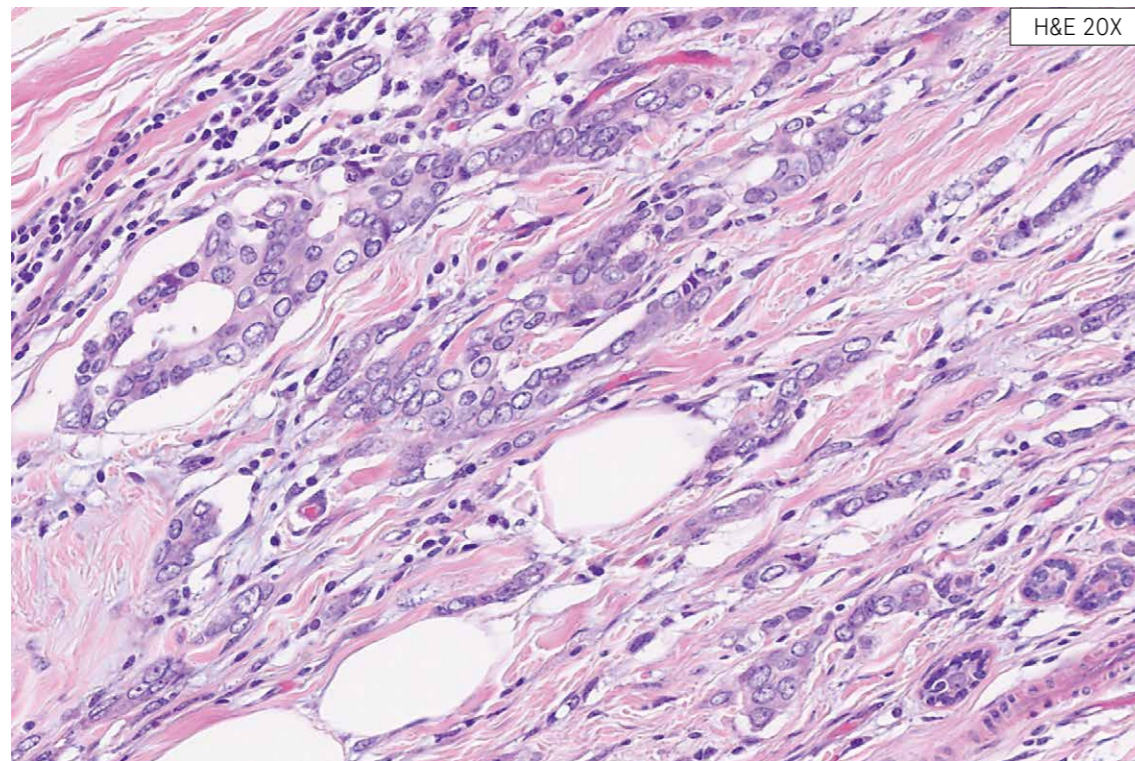
症例6：細胞質に染色を認め、判定が難しい生検症例。10倍でもかすかに膜染色が見えるが、20倍、次いで40倍に拡大すると、さらに多くの細胞にかすかな～弱い不完全な膜染色を認める。細胞質に染色が認められるため、判定が難しく、不完全なかすかな～弱い膜染色の割合(%)が9%と、HER2 IHCスコア1+のカットオフ値にきわめて近い。



■参考症例

HER2 IHCスコア1+

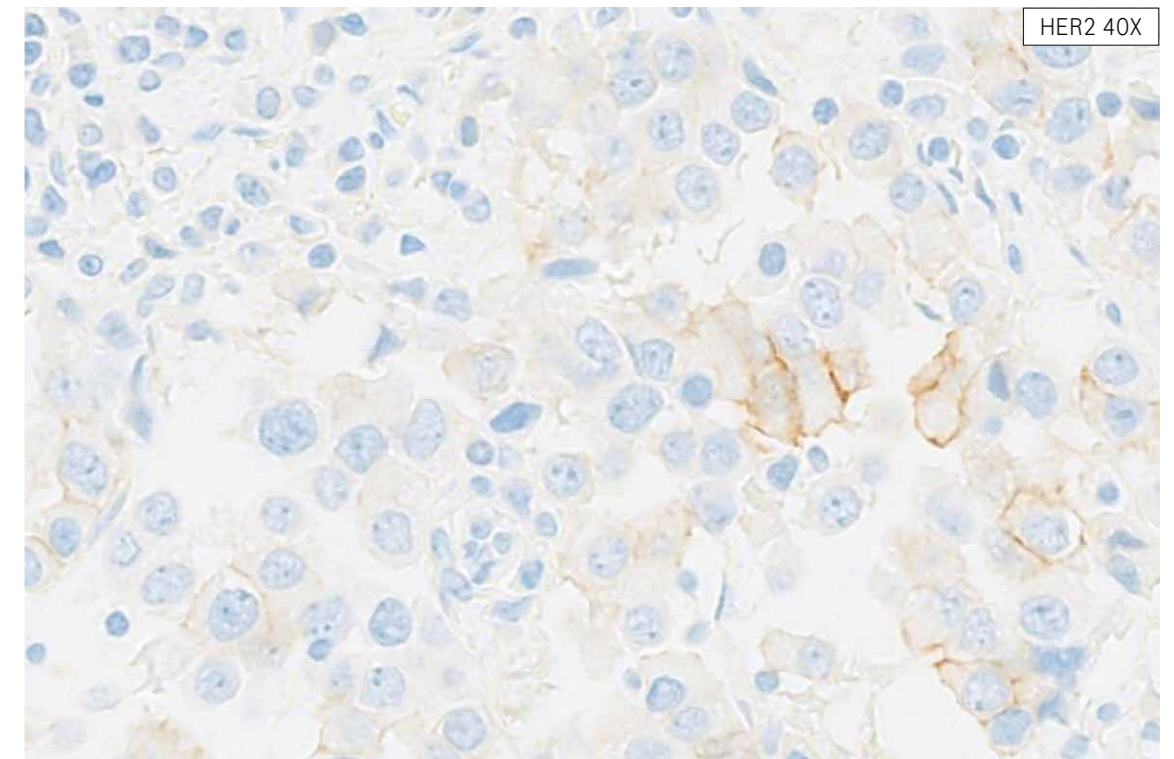
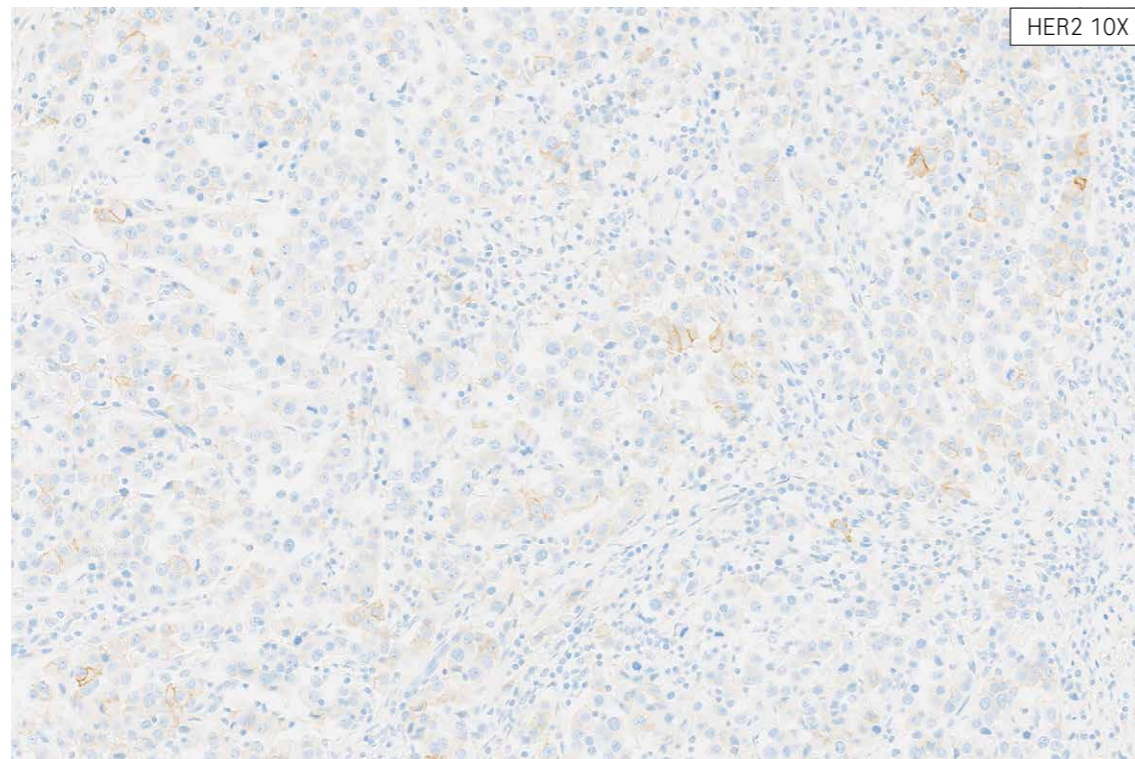
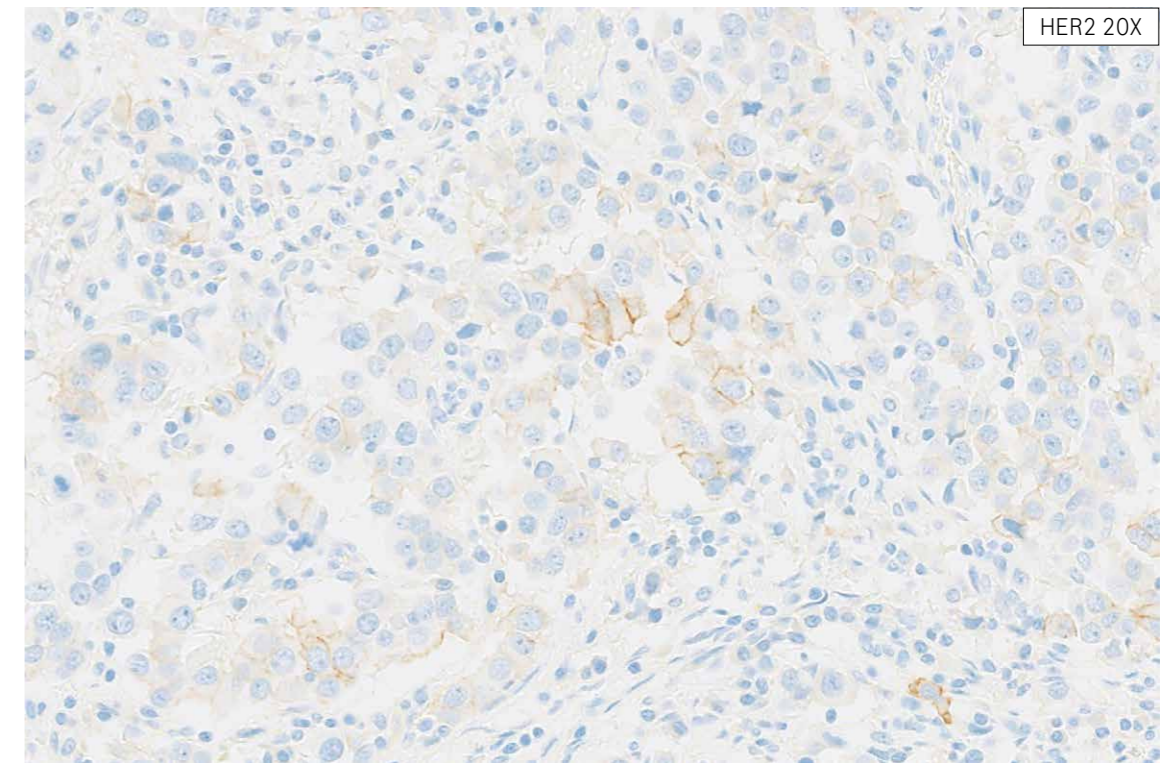
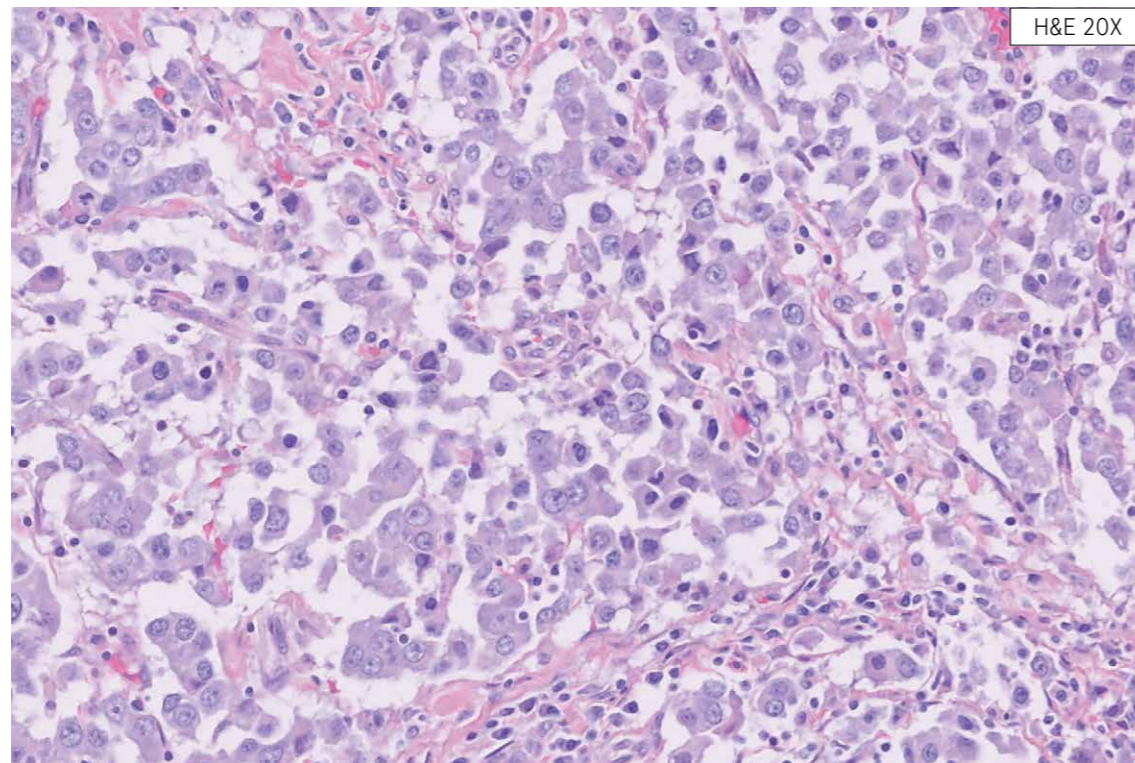
症例1：細胞質に染色を認める腫瘍が確認され、かすかな～弱い膜染色との識別が困難になっている。10倍でもいづらかHER2染色を確認できるが、かすかな膜染色を観察するには高倍率(最大40倍)での確認が必要である。(矢印)これは12%の部分的なかすかな～弱い膜染色を認める、判定が難しい症例であり、HER2 IHCスコア1+と判定された。



■参考症例

HER2 IHCスコア1+

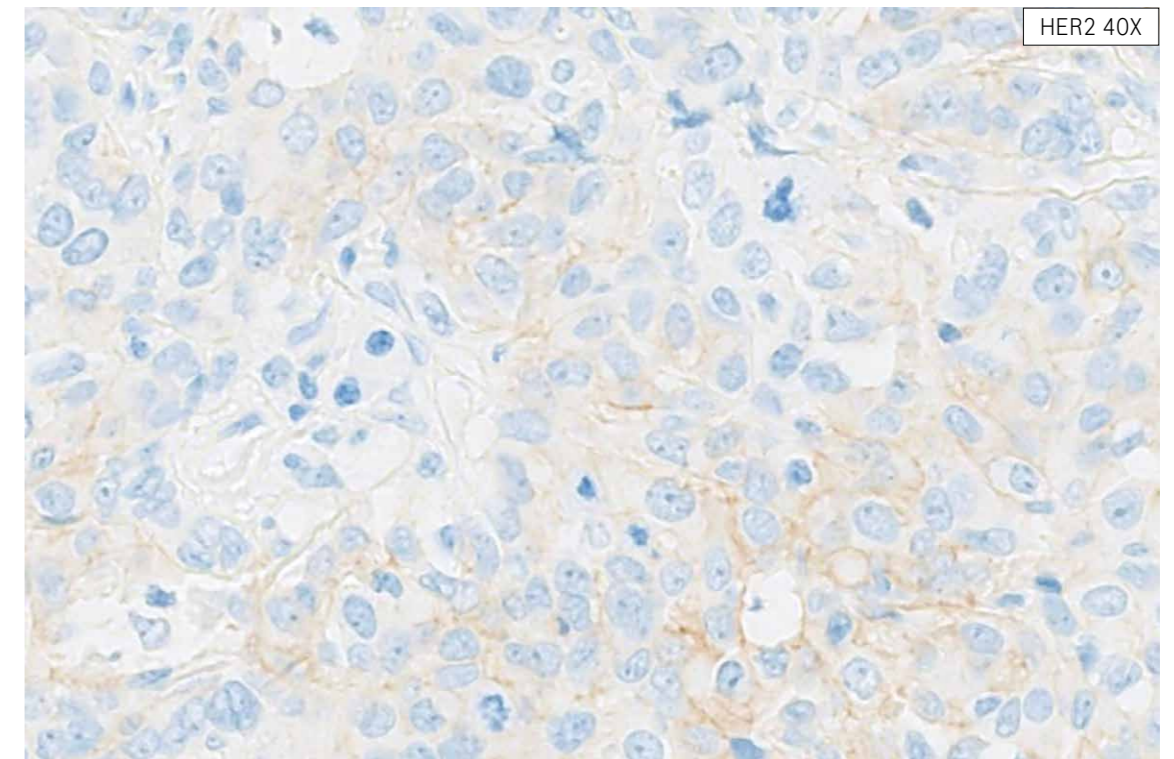
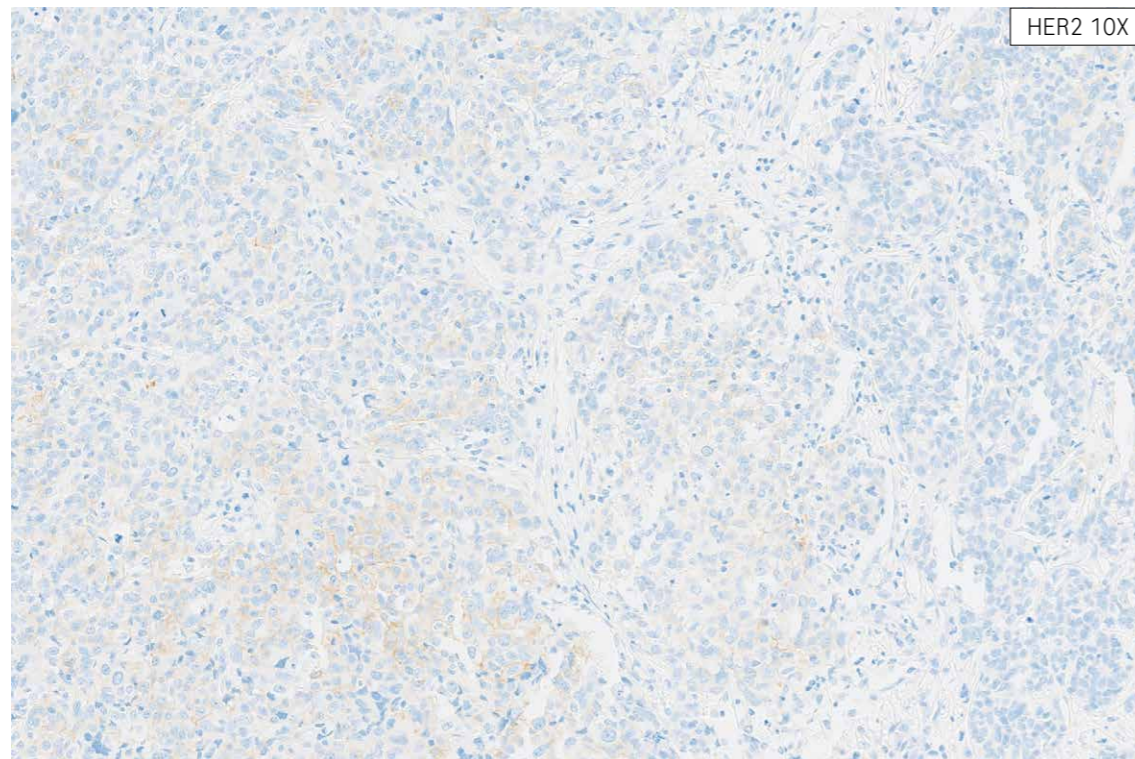
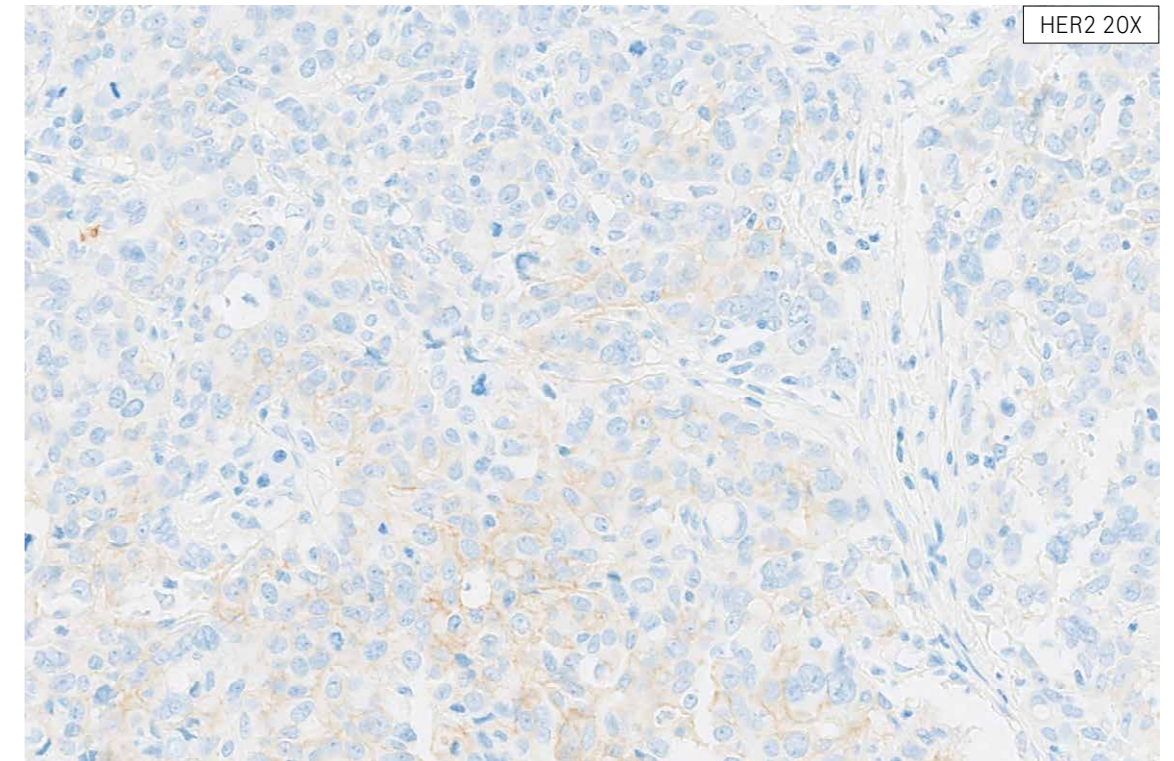
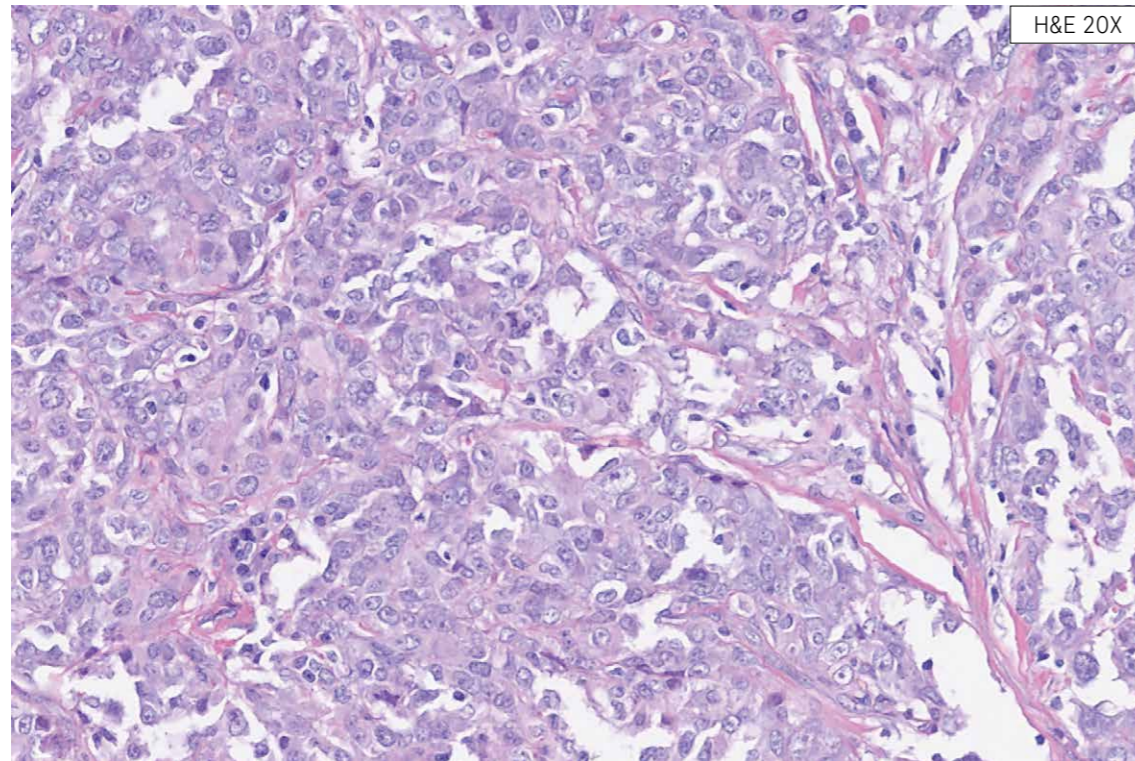
症例2：細胞質に染色を認める腫瘍が確認され、かすかな～弱い膜染色との識別が困難になっており、倍率40倍での確認が必要である。弱い完全な膜染色を示す細胞もみられるが、腫瘍細胞全体の10%未満である。本症例は、15%の腫瘍細胞に膜染色を認め、判定が難しい症例である。HER2 IHCスコア1+と判定された。



■参考症例

HER2 IHCスコア1+

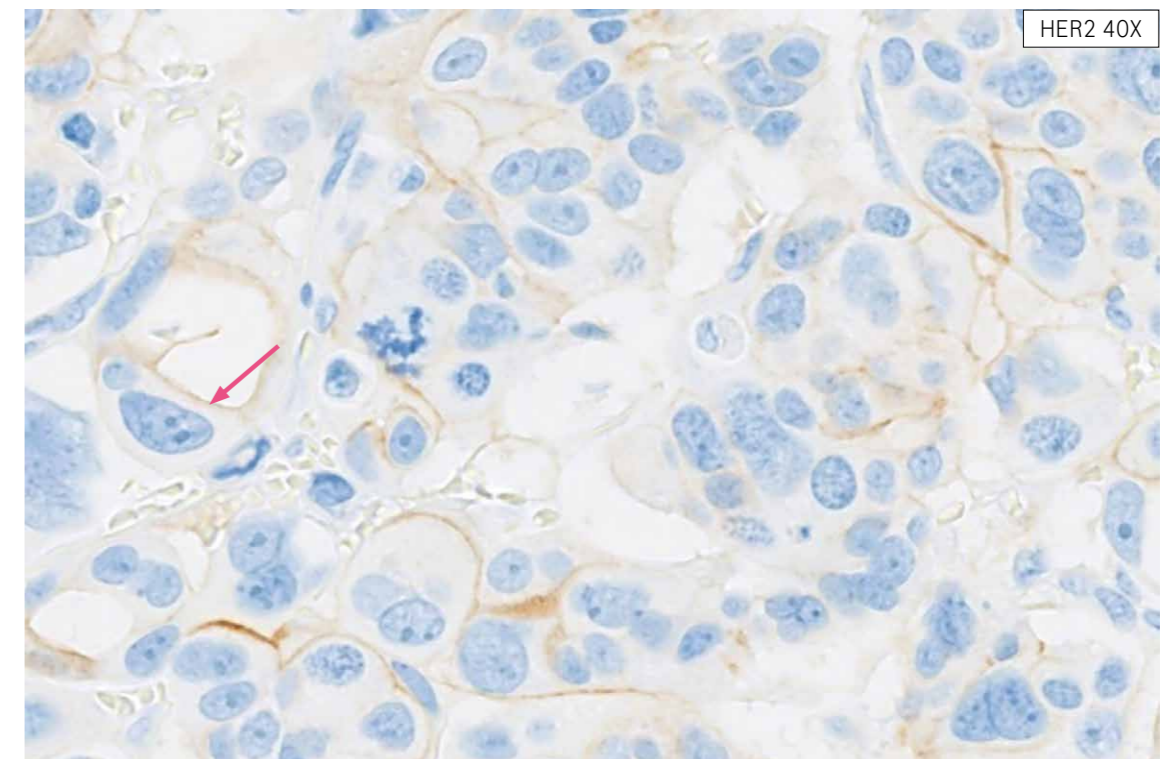
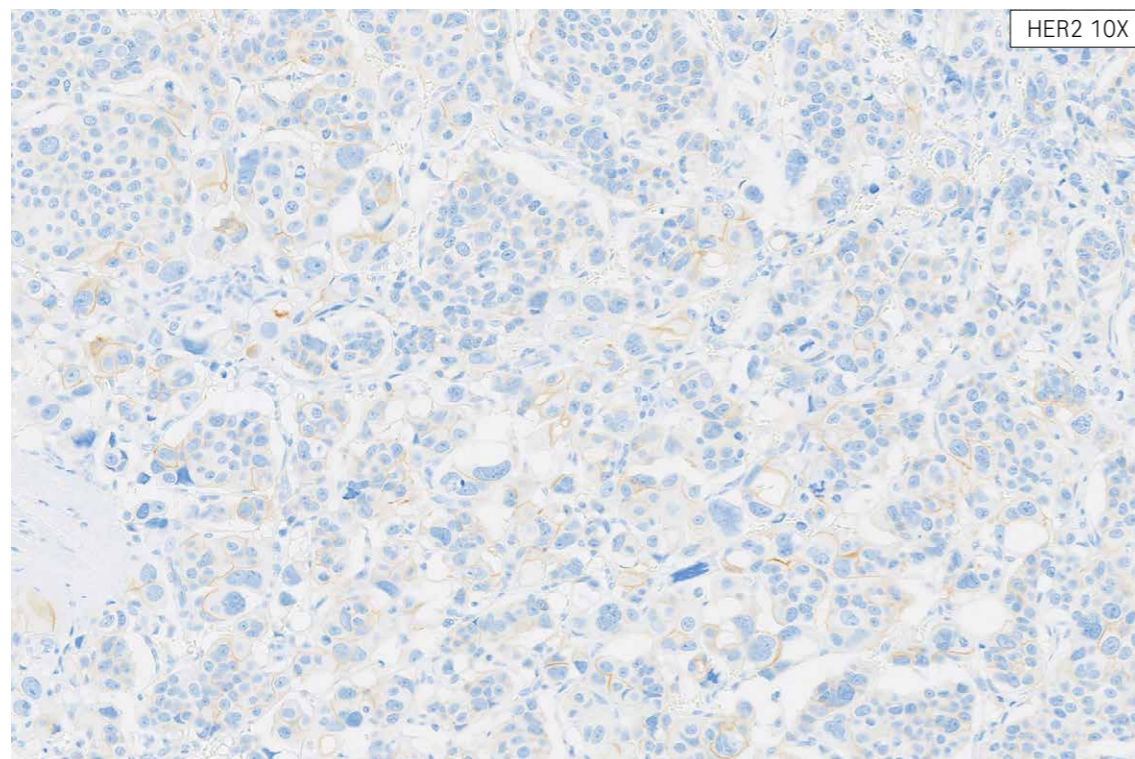
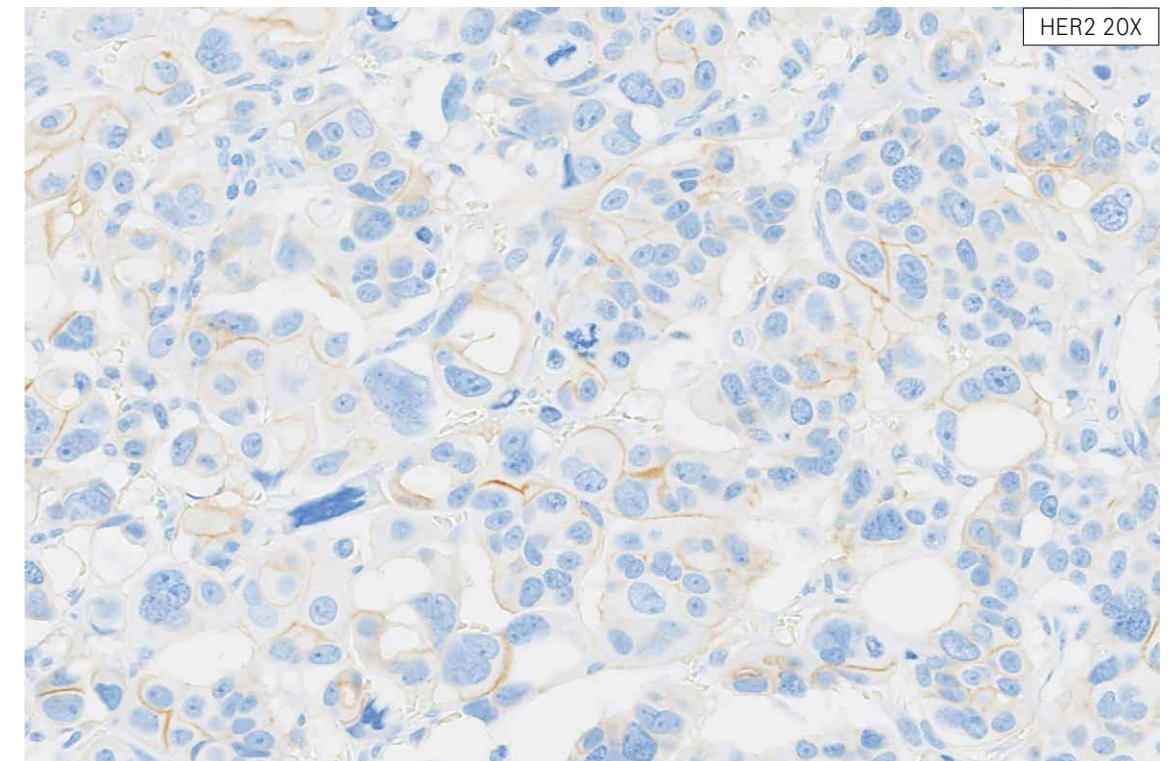
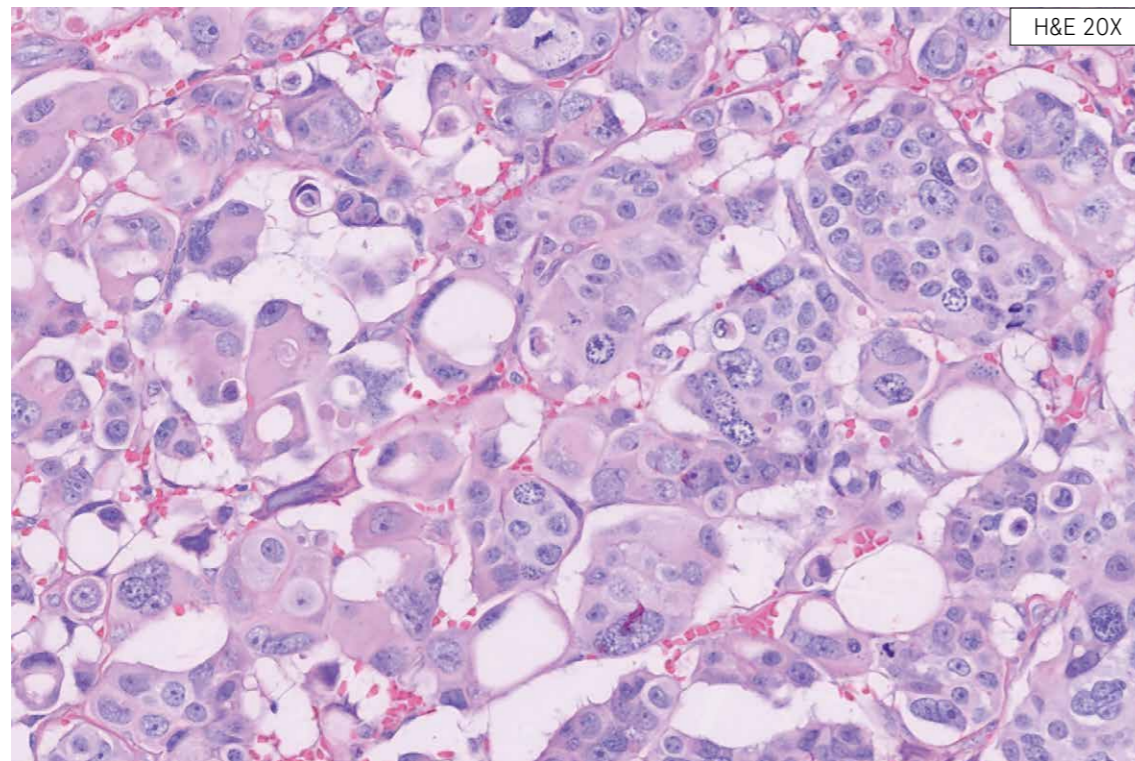
症例3：この生検症例は一部に壊死を伴った多くの浸潤性の腫瘍が観察される。そのほか、非腫瘍性の乳房上皮組織が認められる。ところどころに低倍率でも確認できる細胞質にも染色を認める。ところどころに弱い～中等度の不完全な膜染色が認められる。完全な膜染色を示す腫瘍細胞がまれに認められる。一部の腫瘍細胞の膜染色は低倍率でも見えるが、かすかな膜染色も残らず対象に含めるには40倍で確認することが必要である。この症例は20%の腫瘍細胞に膜染色を示し、判定が難しいが、HER2 IHCスコア1+と判定された。



■参考症例

HER2 IHCスコア1+

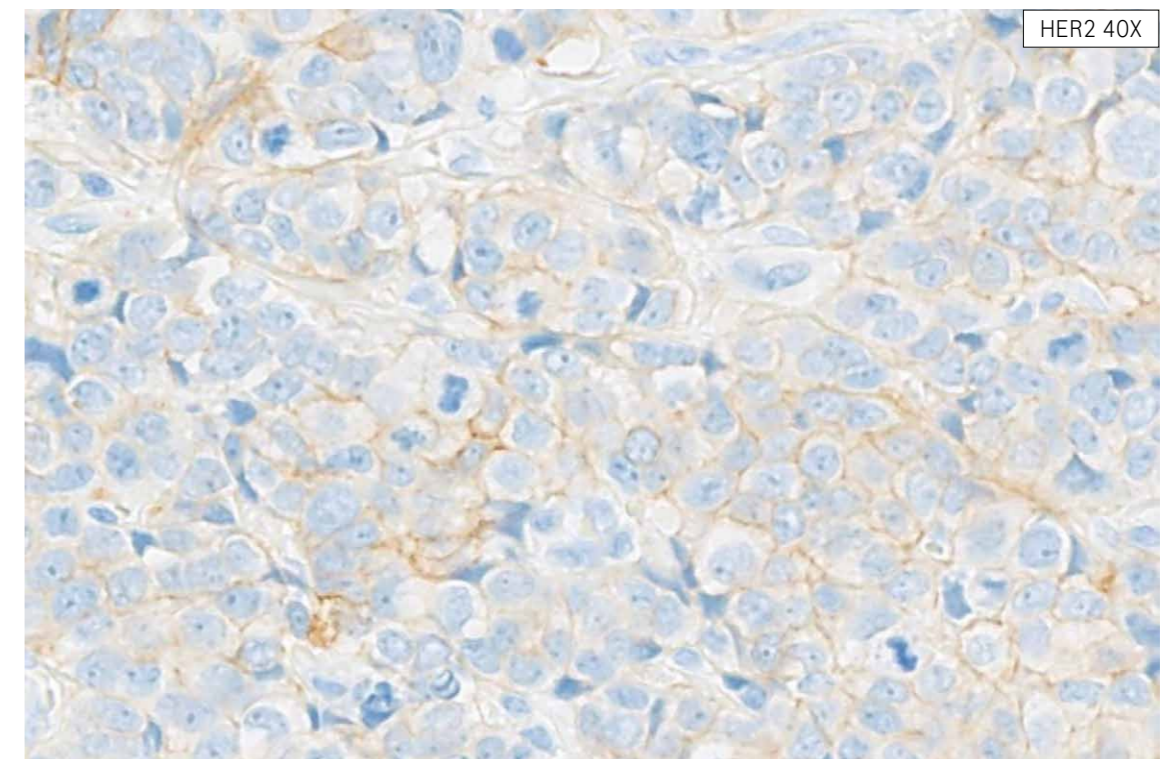
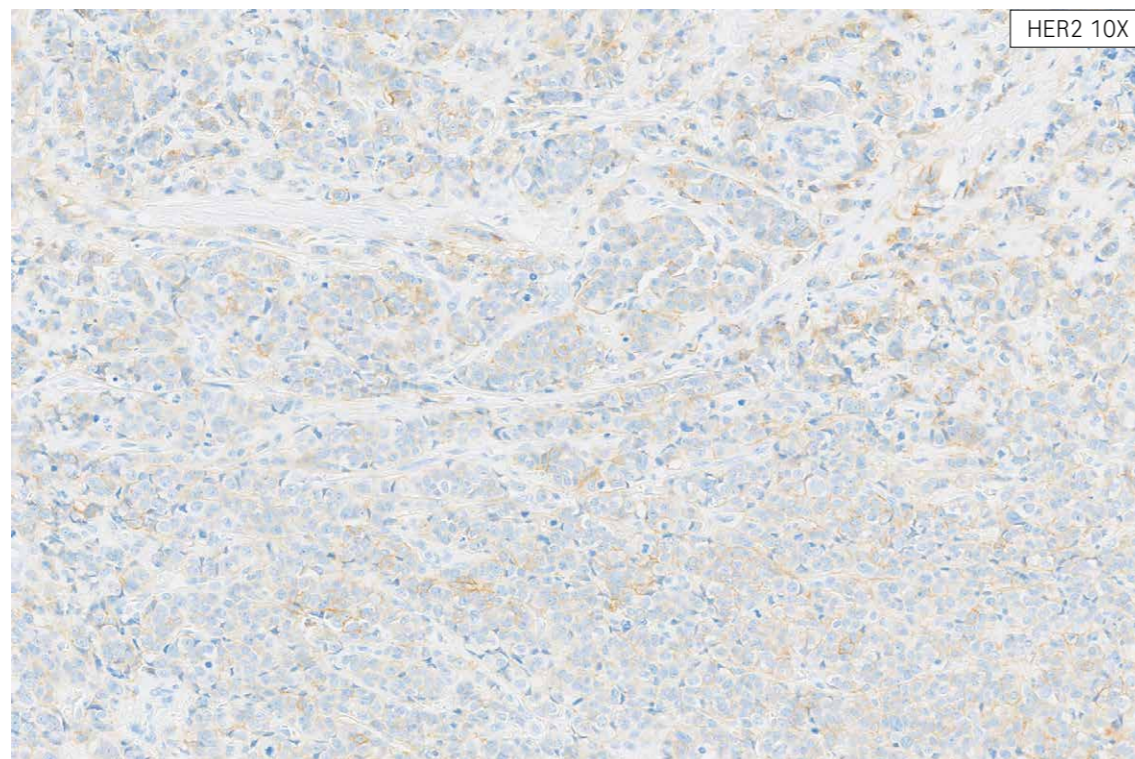
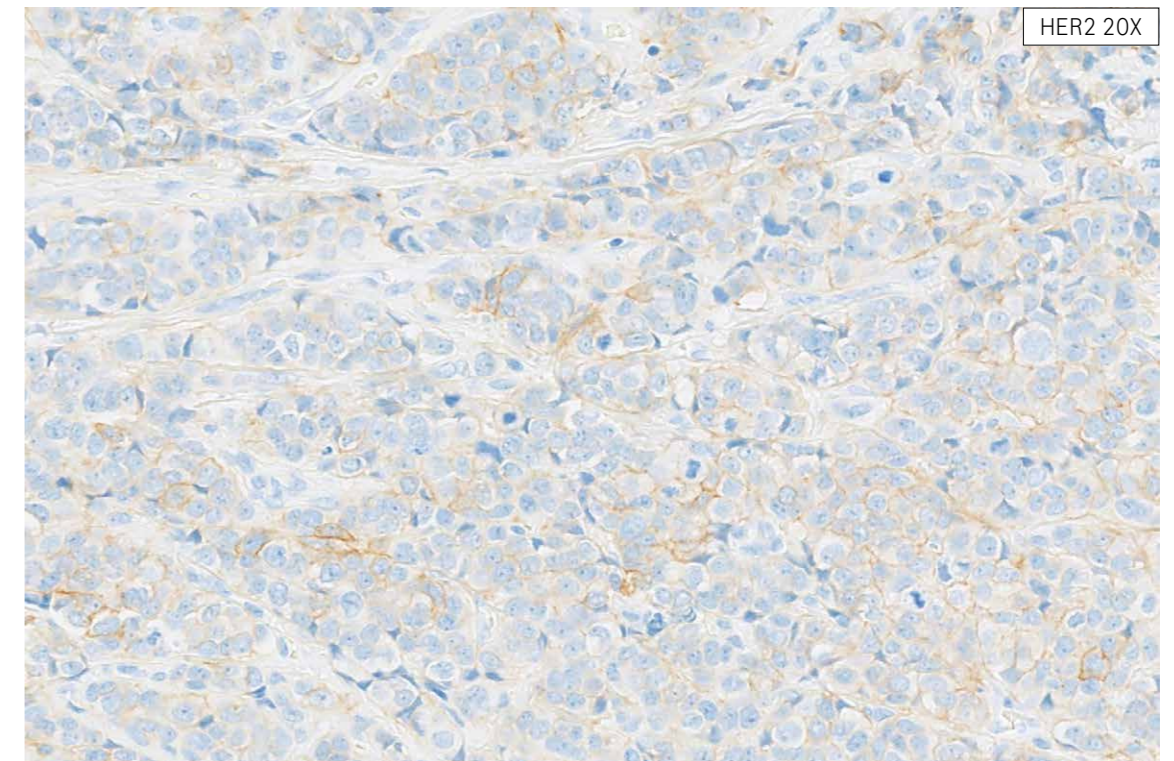
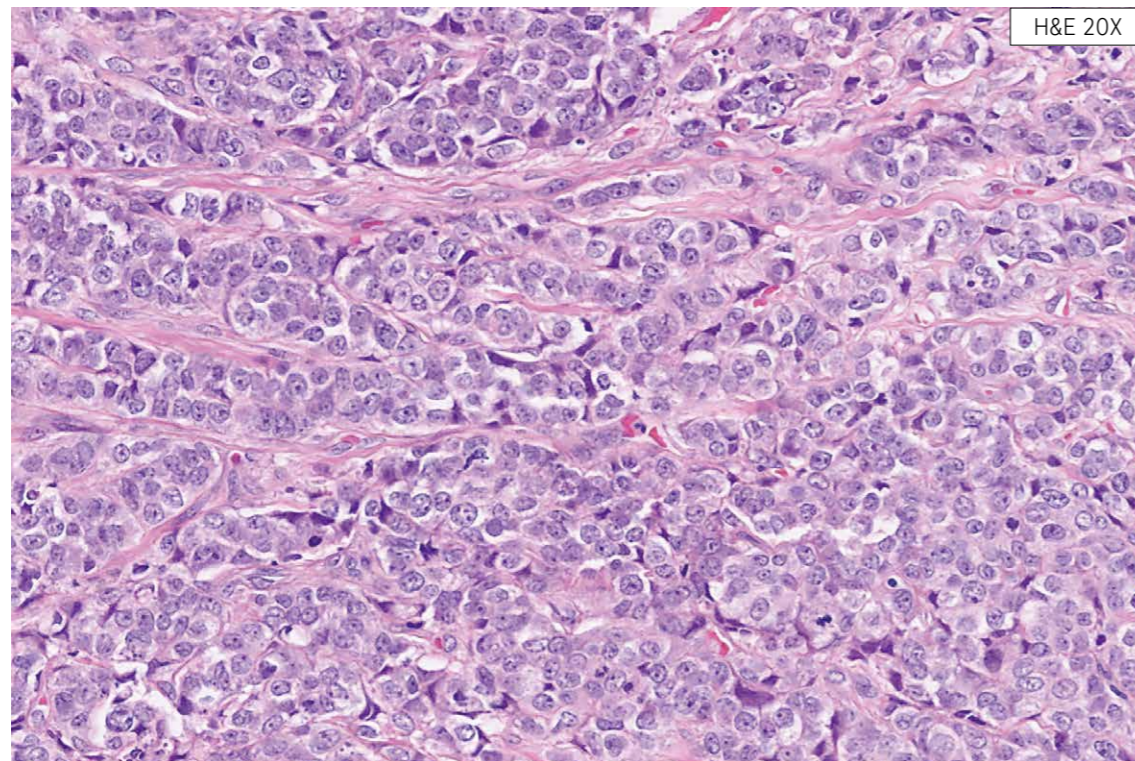
症例4：細胞質に染色を認める多くの腫瘍が確認され、かすかな～弱い膜染色との識別が困難になっており、対物40倍での観察が必要である。空隙に沿った染色(矢印)が認められるが、ほかに腫瘍細胞の膜に染色が認められなければHER2スコアリングの対象には含めない。全体的に、この症例は35%に不完全な腫瘍細胞の膜染色が確認され、HER2 IHCスコア1+と判定された。



■参考症例

HER2 IHCスコア1+

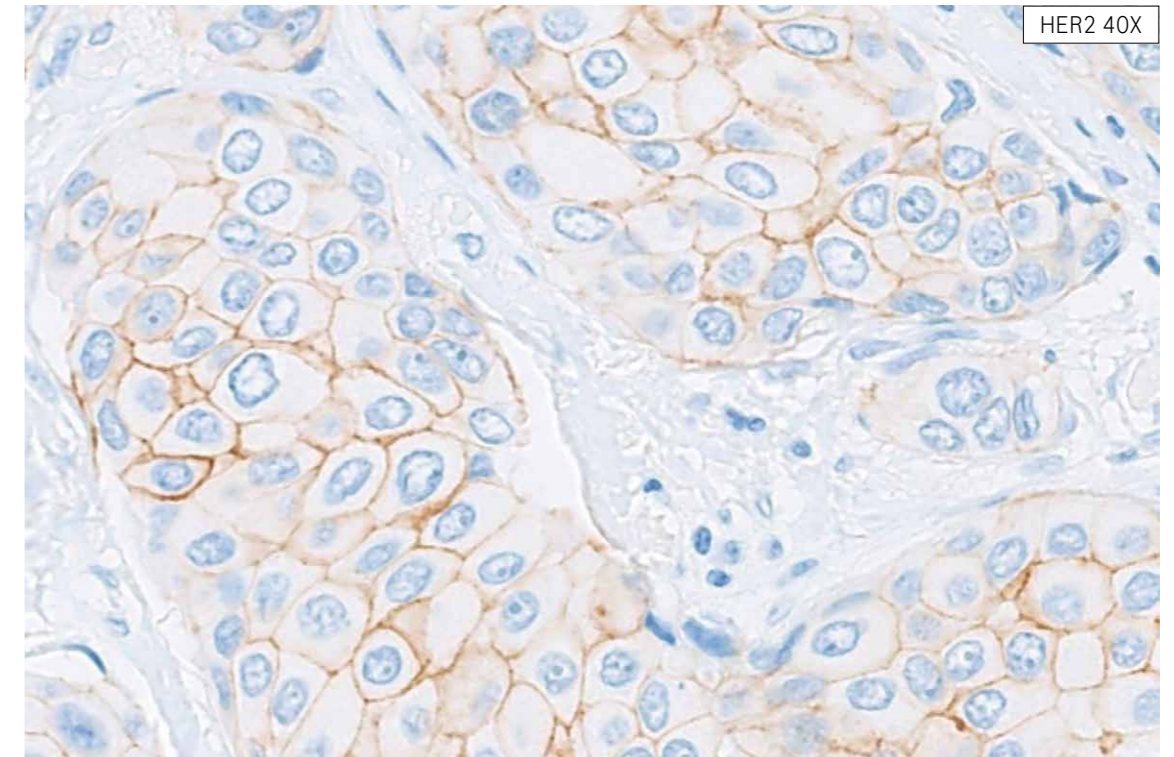
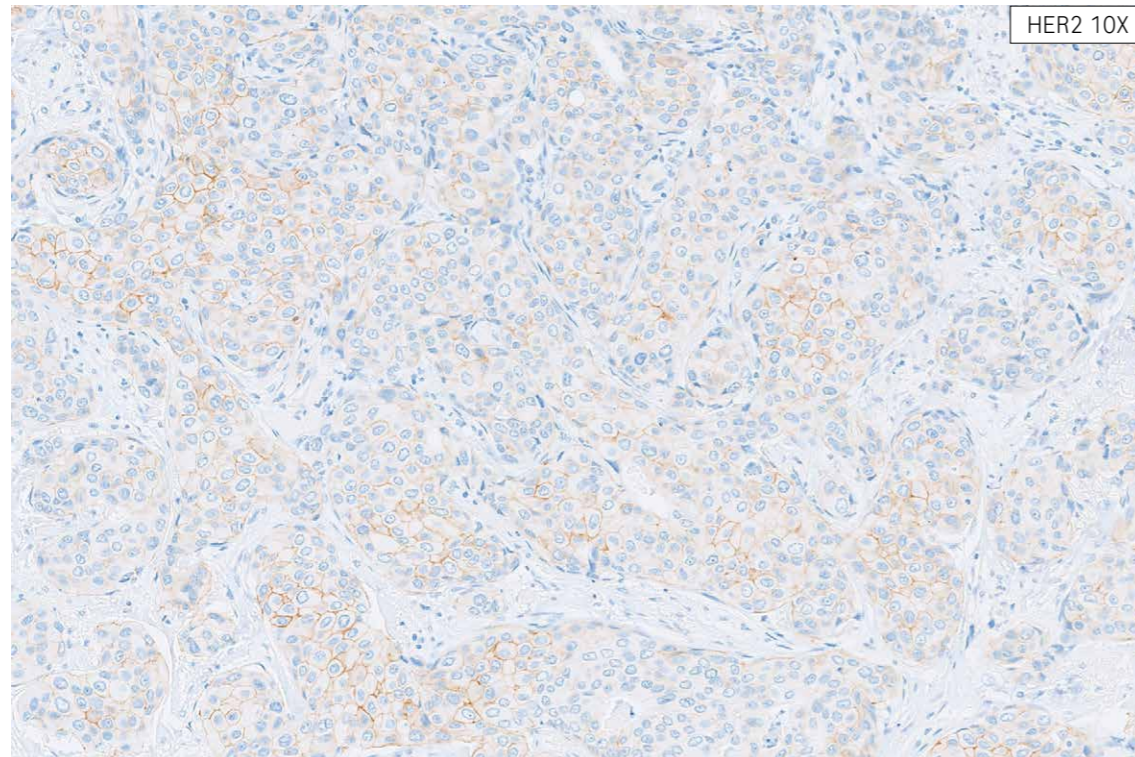
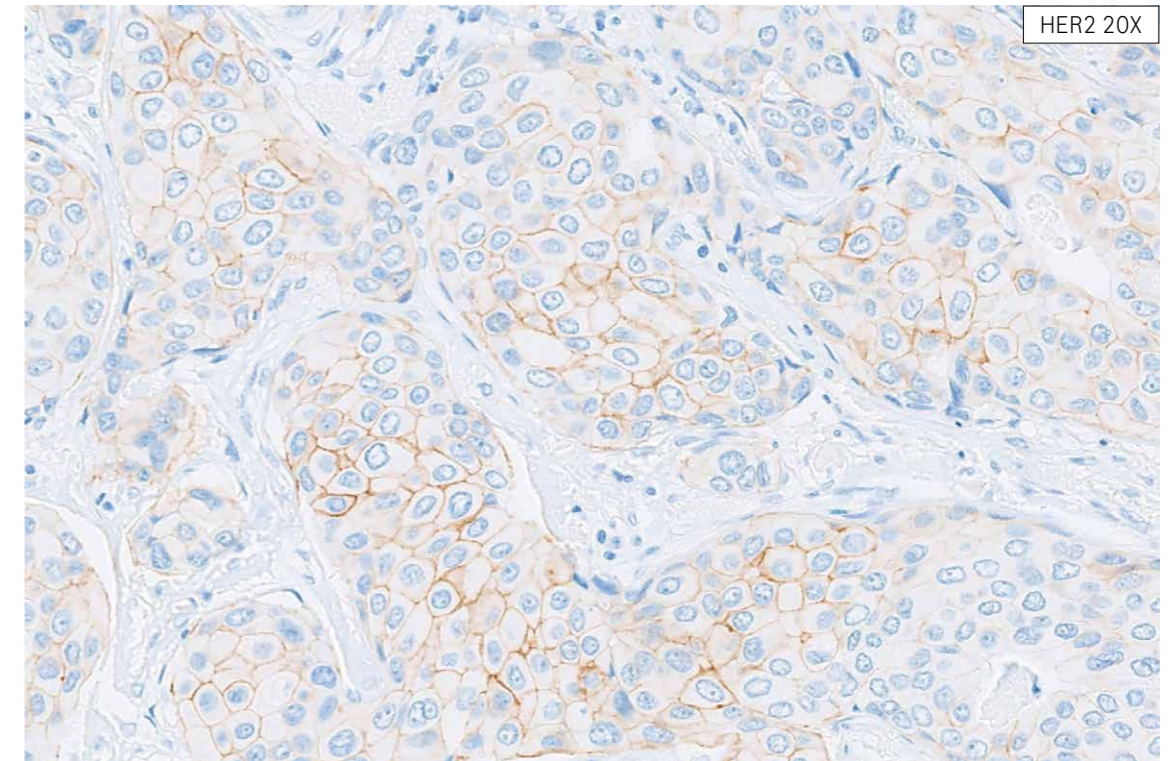
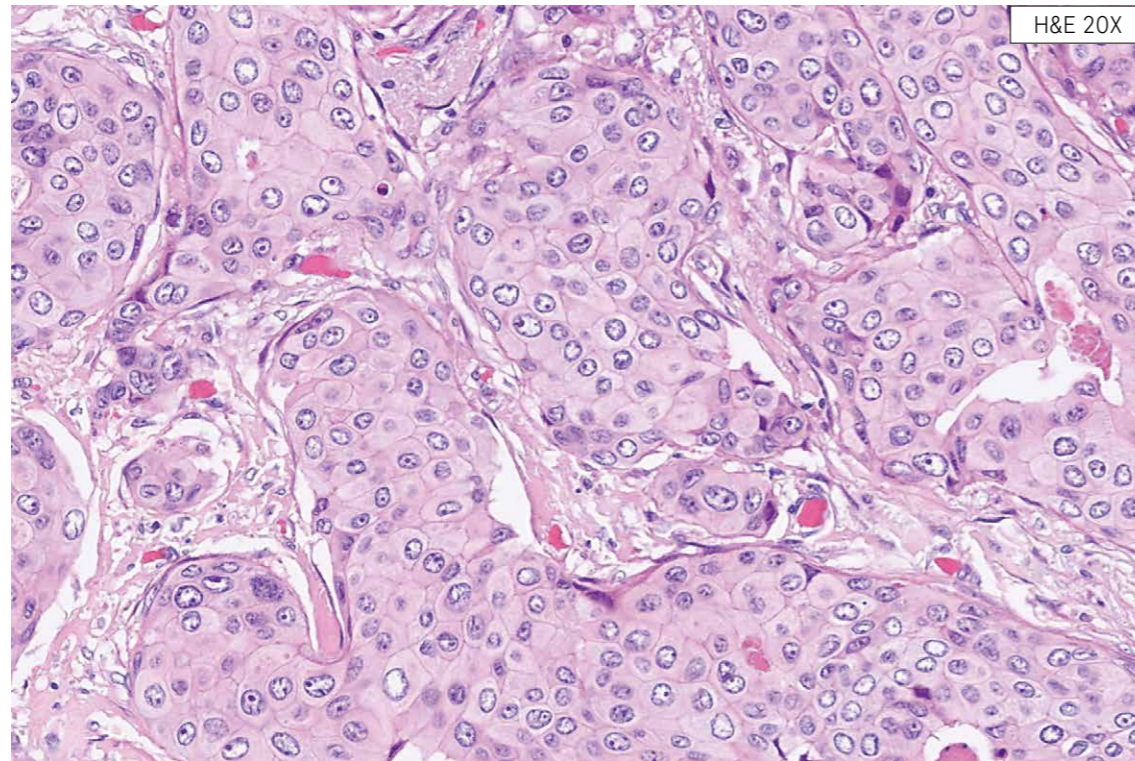
症例5：ヘテロジェニティを認める。また、部分的に細胞質にも染色が観察される。腫瘍細胞の35%に不完全なかすかな、弱度、中等度の膜染色が認められる (HER2 IHCスコア1+)。部分的な細胞質の染色を認めることにより、かすかな～弱い膜染色との識別が困難になっている。かすかな～弱い膜染色を残らずHER2スコアリングの対象に含めるには最大40倍での観察が必要である。



■参考症例

HER2 IHCスコア2+

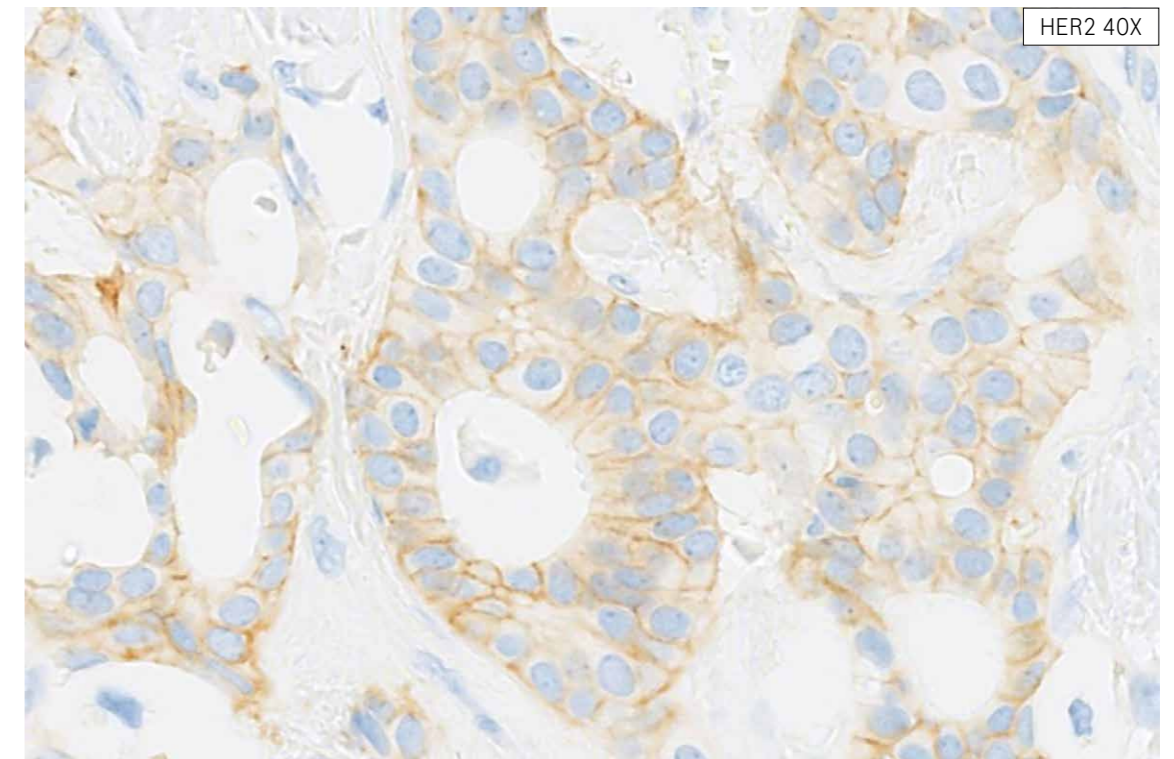
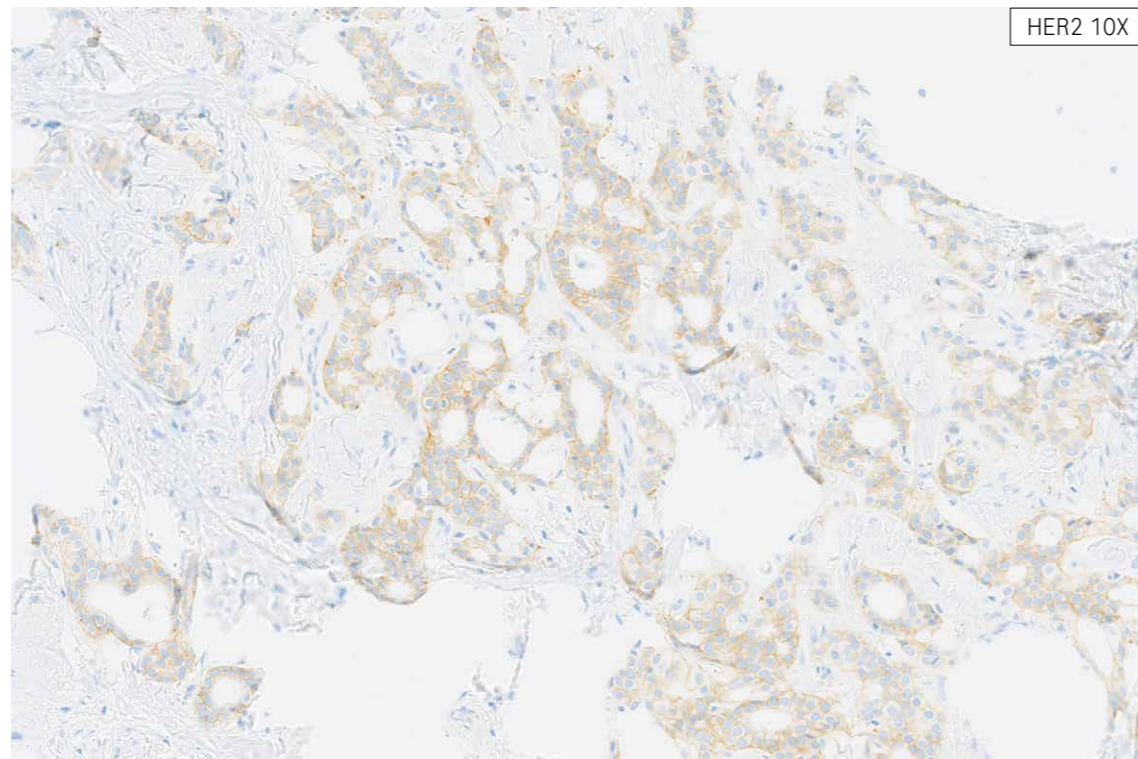
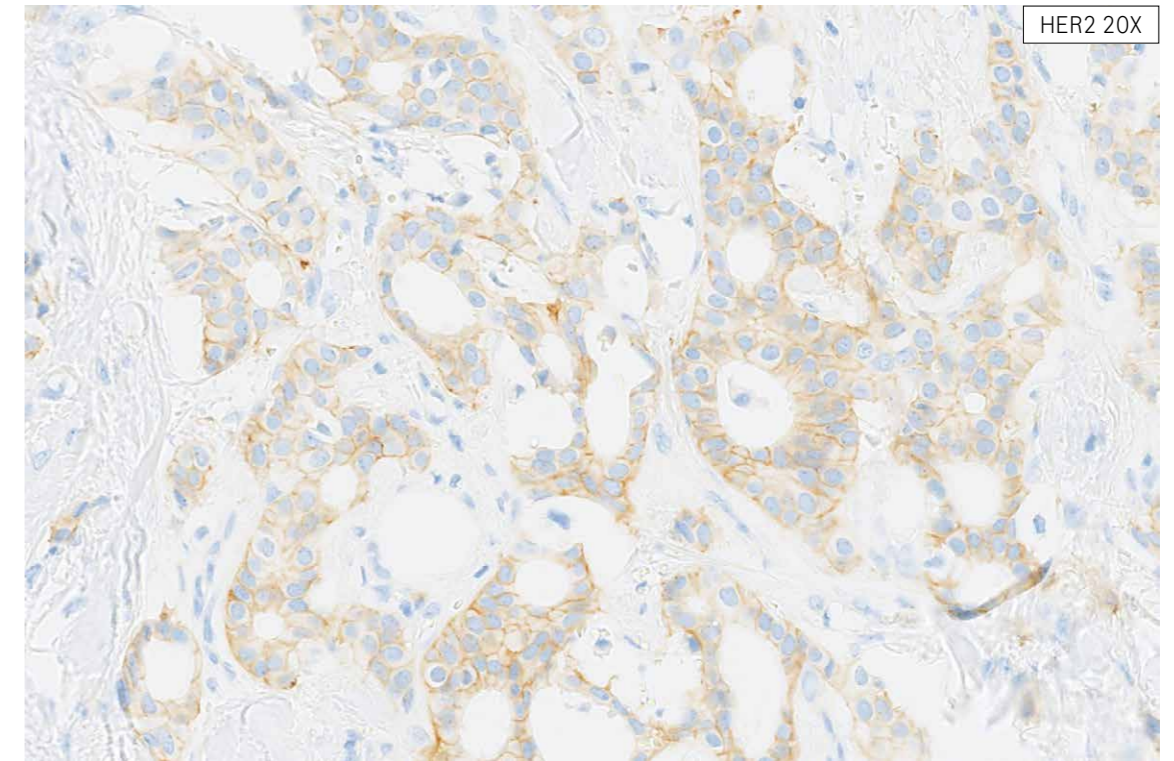
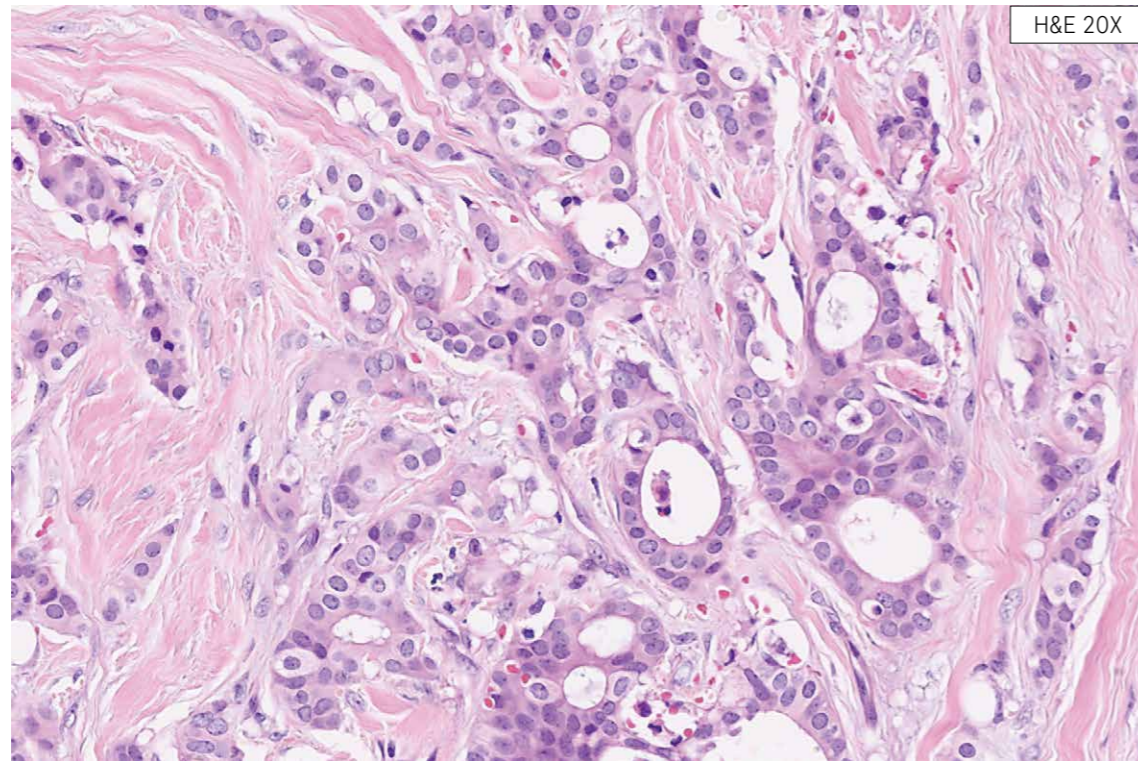
症例1：対物10倍で完全な中等度の膜染色が認められる。倍率をあげて確認すると弱～中等度の完全な膜染色が見える。この症例は、全体的に腫瘍の15%に完全な弱～中等度の膜染色 (HER2 IHCスコア2+) を示し、カットオフ値10%付近であることから、判定が難しい。そのほか、不完全な弱～弱い膜染色が局所に認められる。



■参考症例

HER2 IHCスコア2+

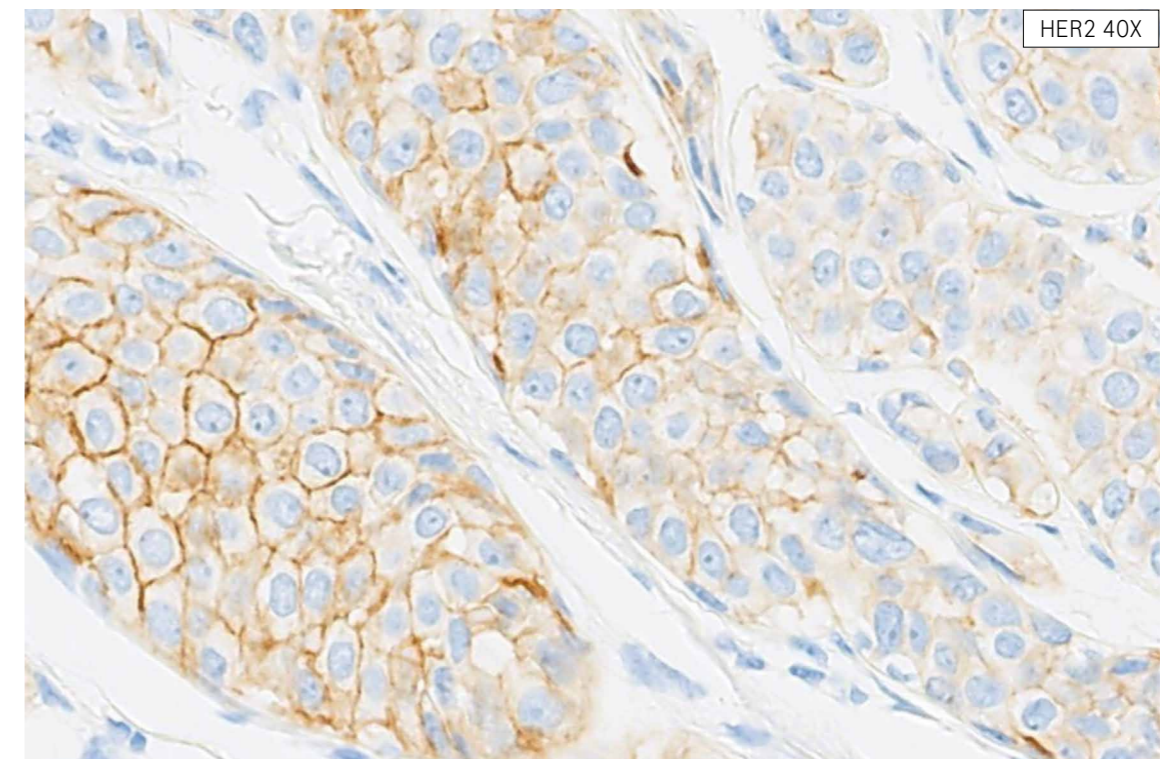
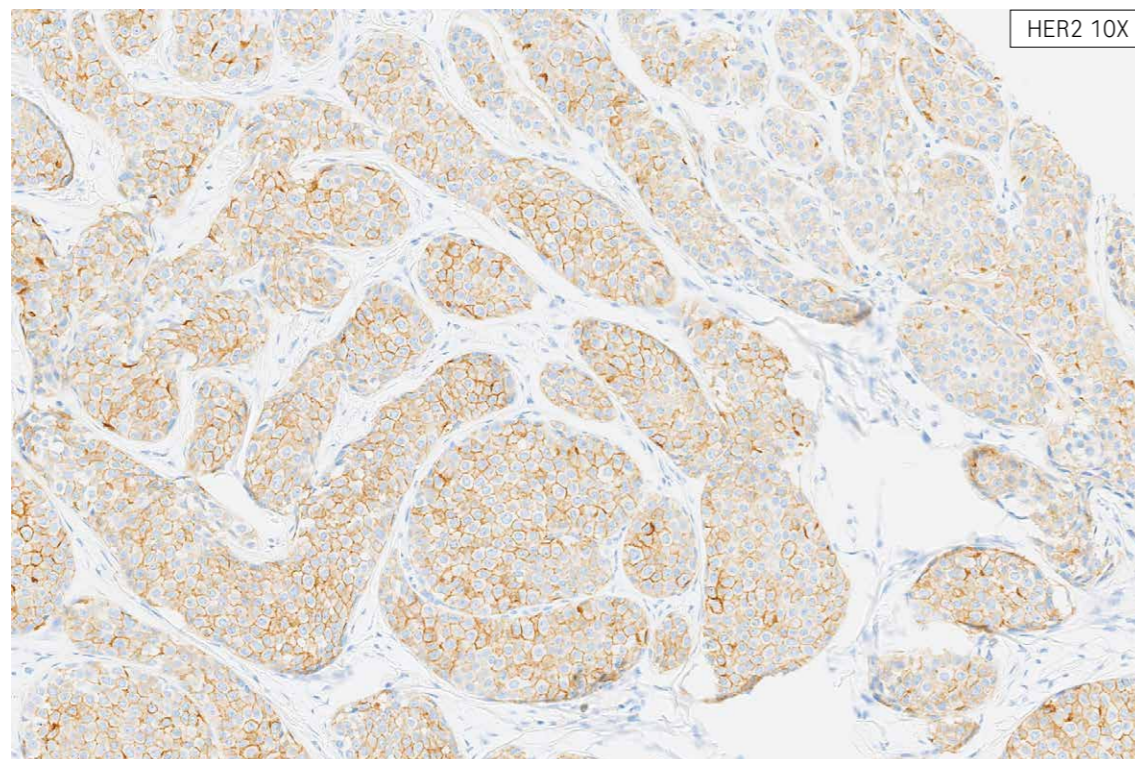
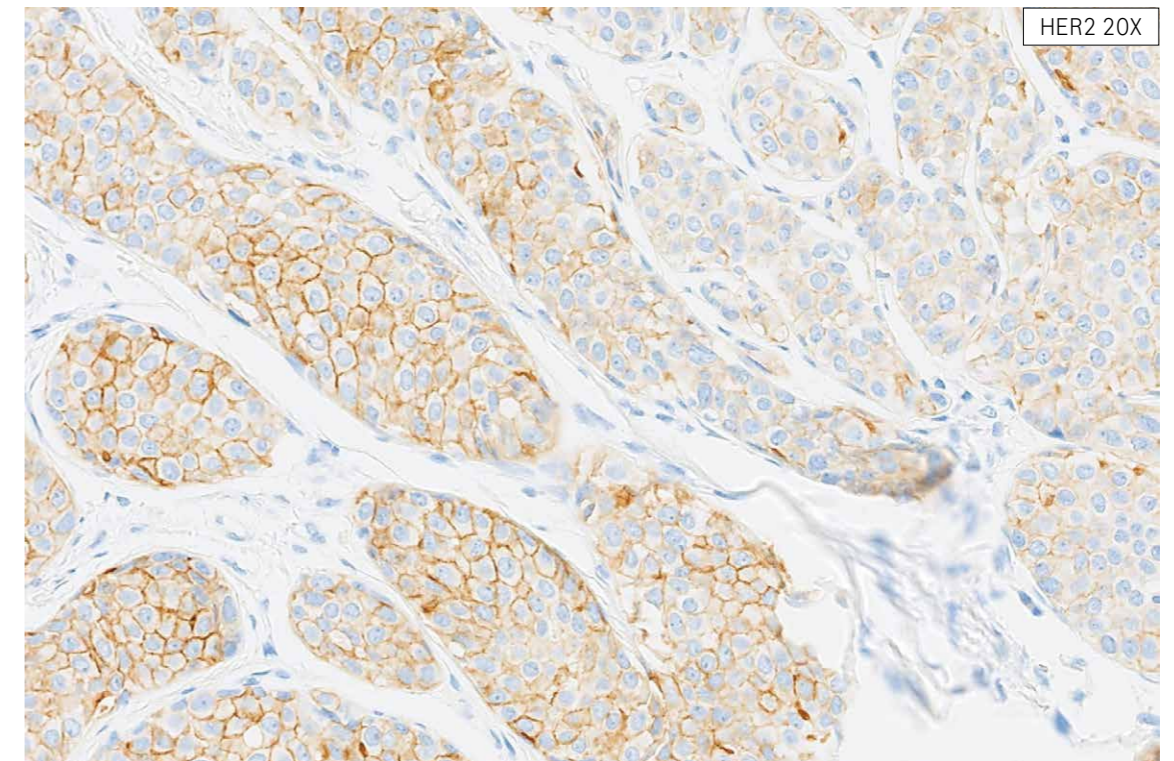
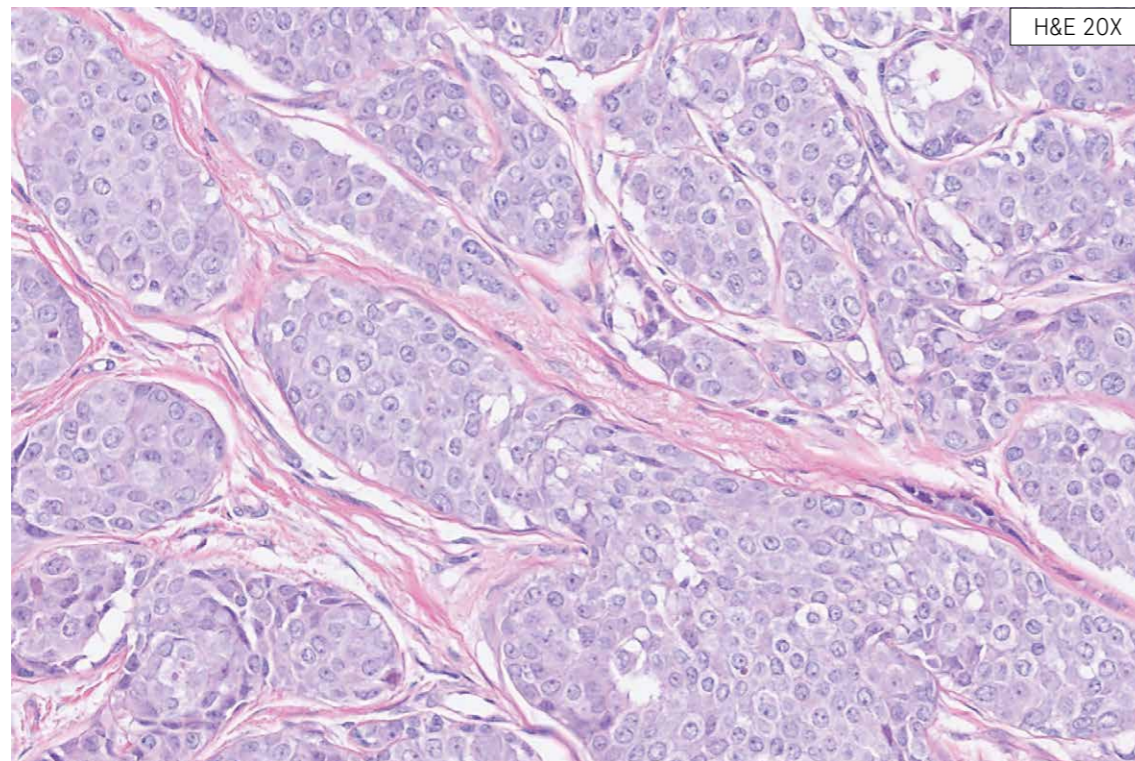
症例2：腺形成した腫瘍が散在する。対物10倍では細胞質への染色のほか、局所的に膜への染色が認められる。倍率をあげて観察すると完全な弱～中等度の膜染色が確認できる。この症例は細胞質への染色を認めるほか、全腫瘍の20%に2+相当の膜染色 (HER2 IHCスコア2+) が認められるため、判定が難しい。



■参考症例

HER2 IHCスコア2+

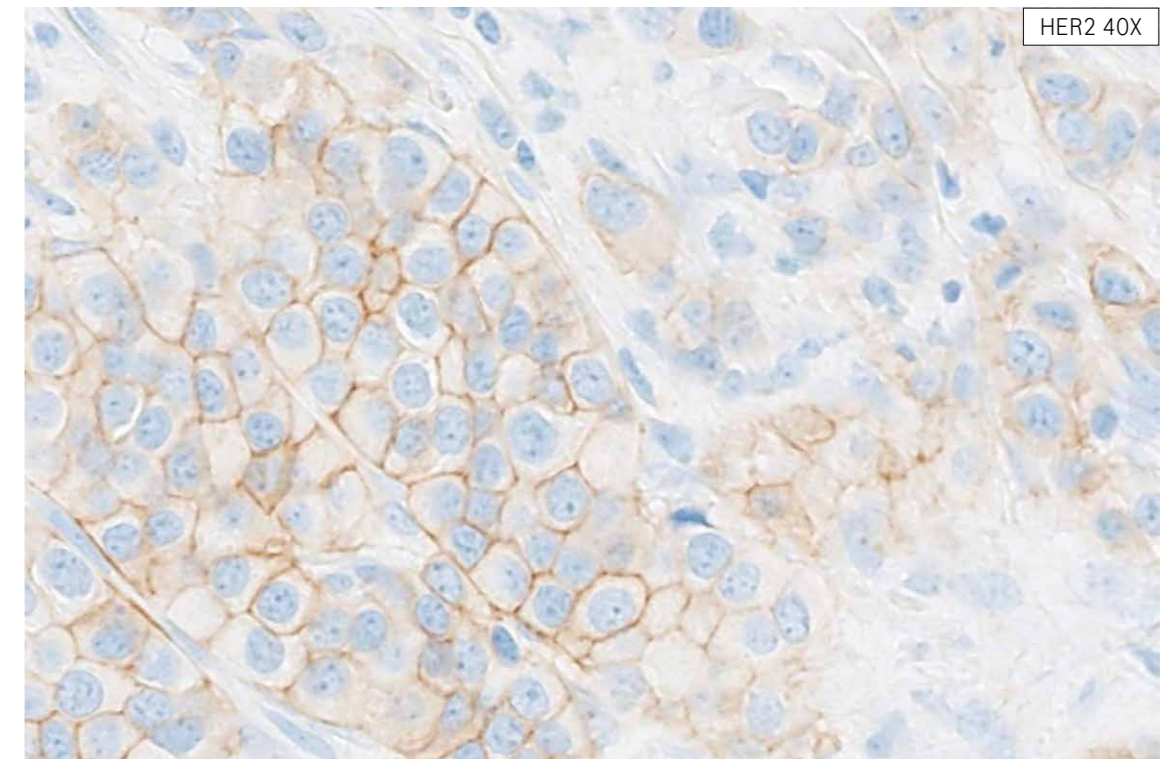
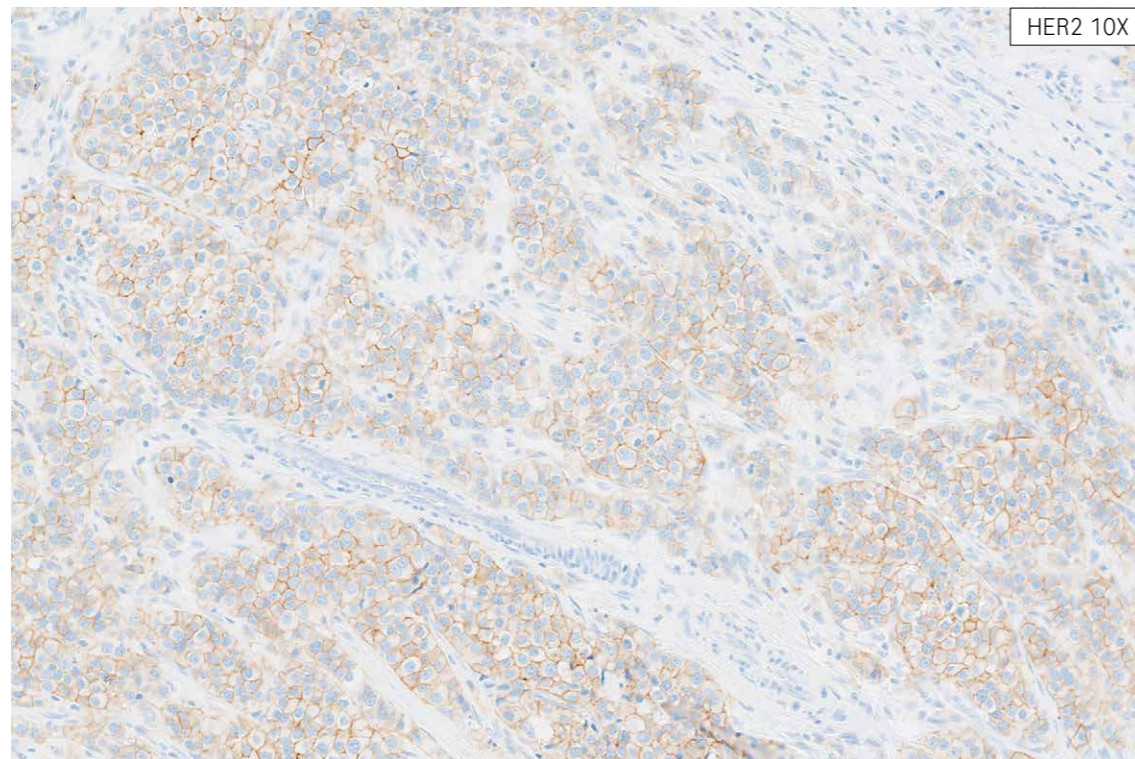
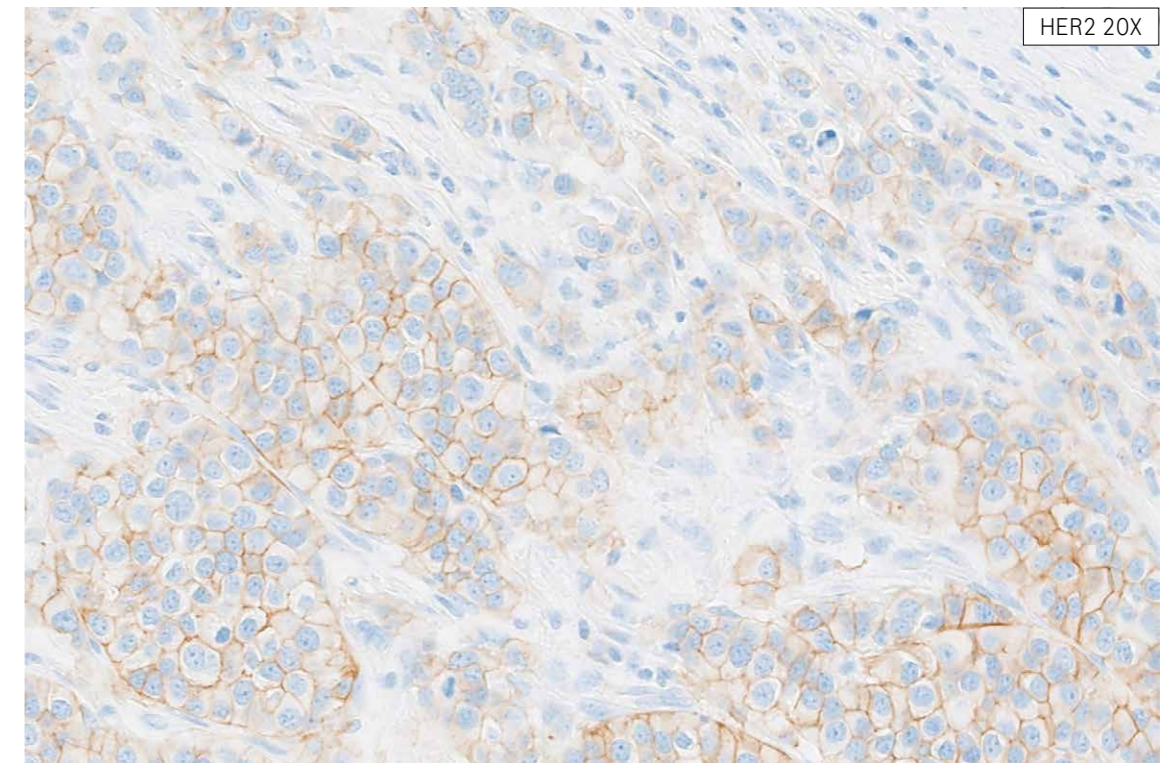
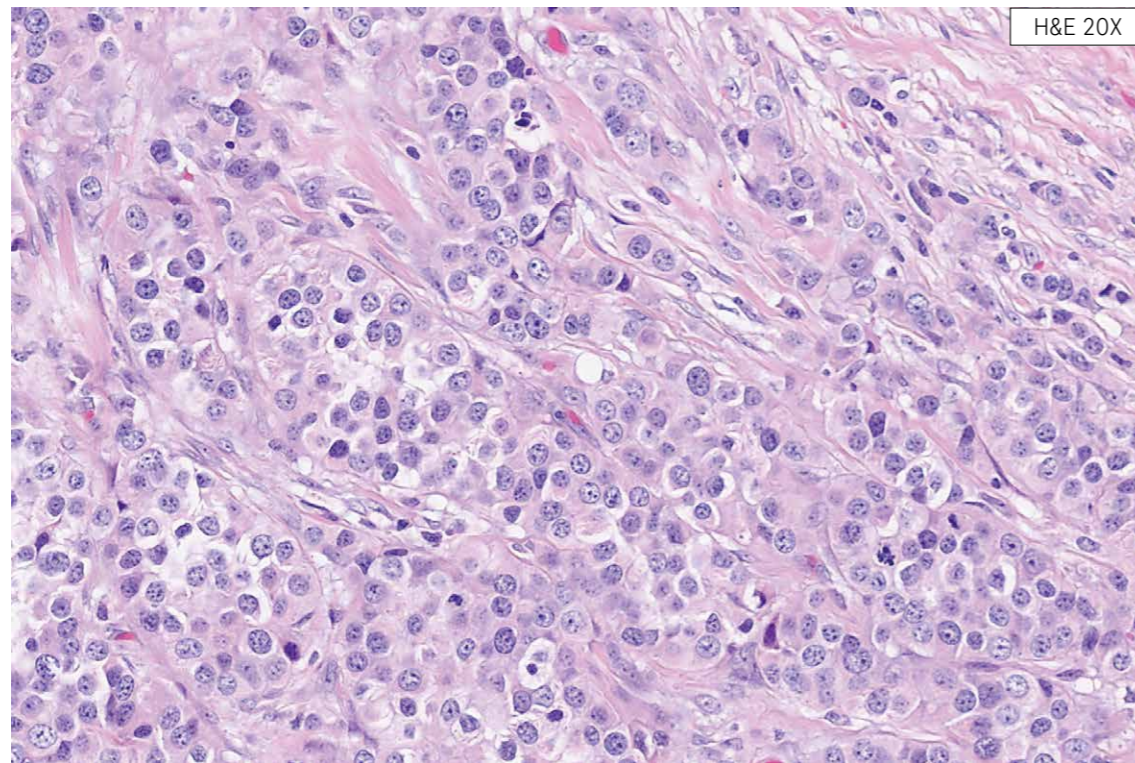
症例3：多くの浸潤性腫瘍が観察される。対物10倍で中等度の完全な膜染色が観察できる。また、腫瘍細胞への膜染色の強度が一律ではなく、細胞質への染色も認められる。倍率をあげていくと、さらにかすかな～弱い膜染色が認められる。この症例は全体的に40%の完全な膜染色を認め、HER2 IHCスコア2+と判定された。



■参考症例

HER2 IHCスコア2+

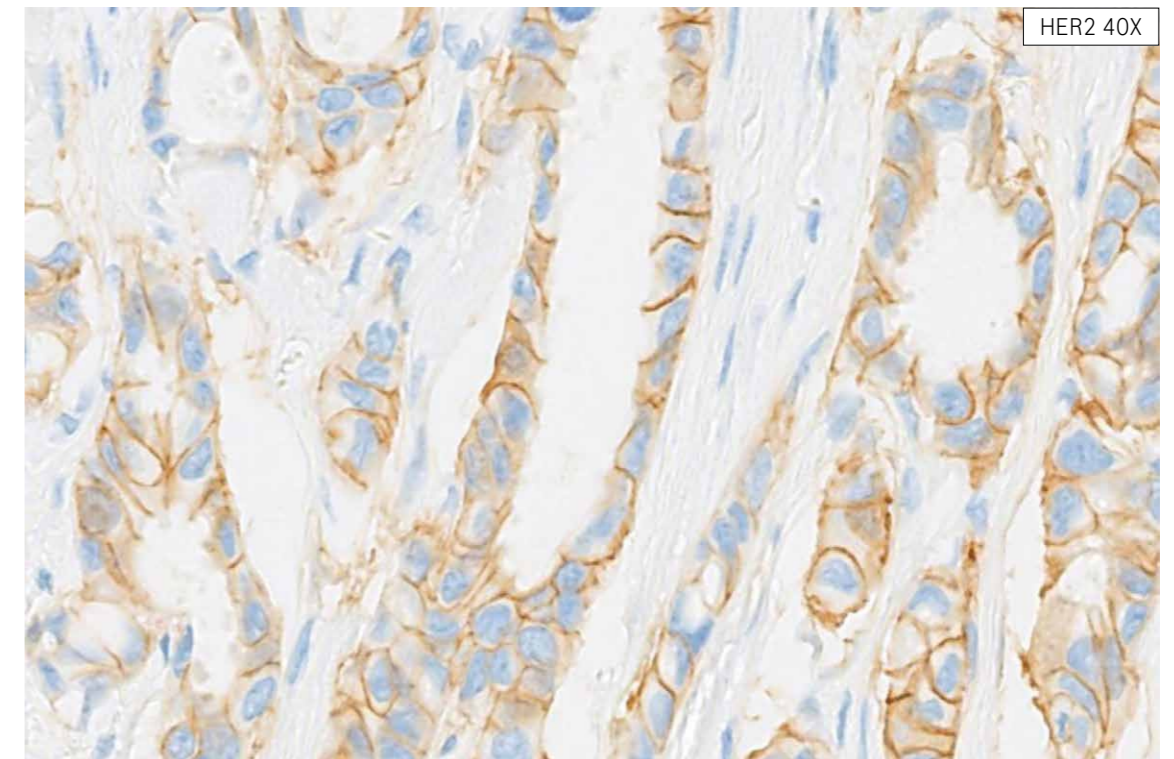
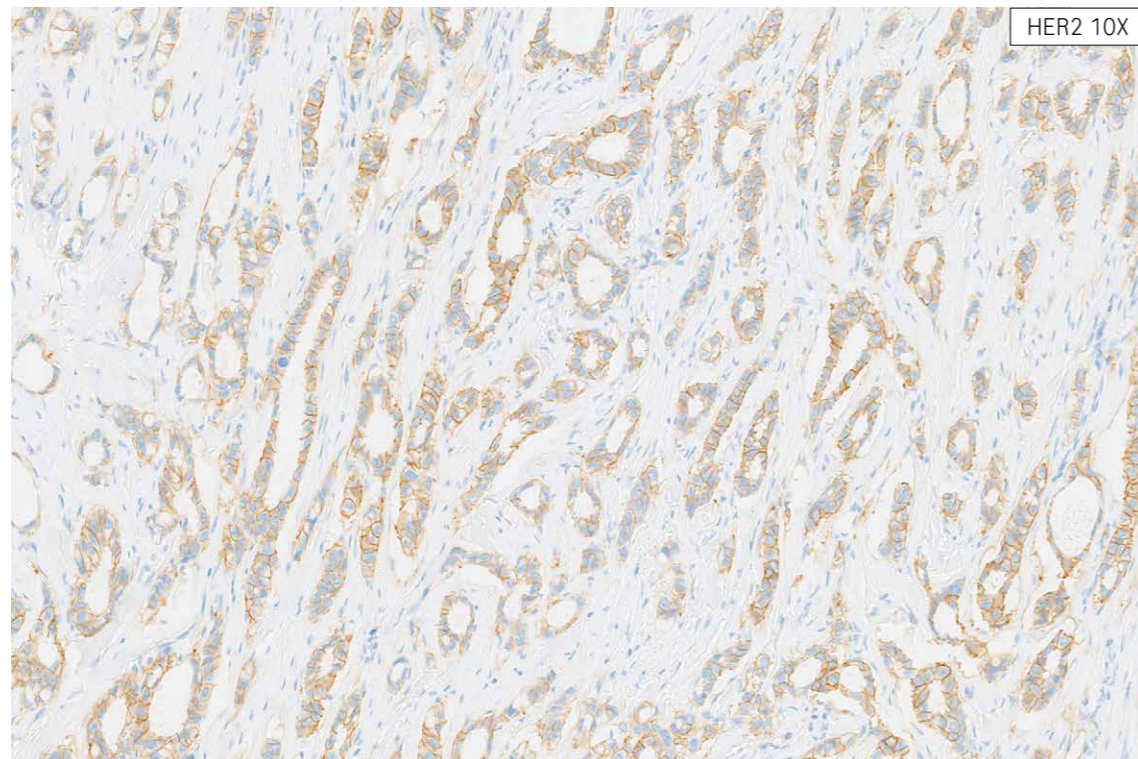
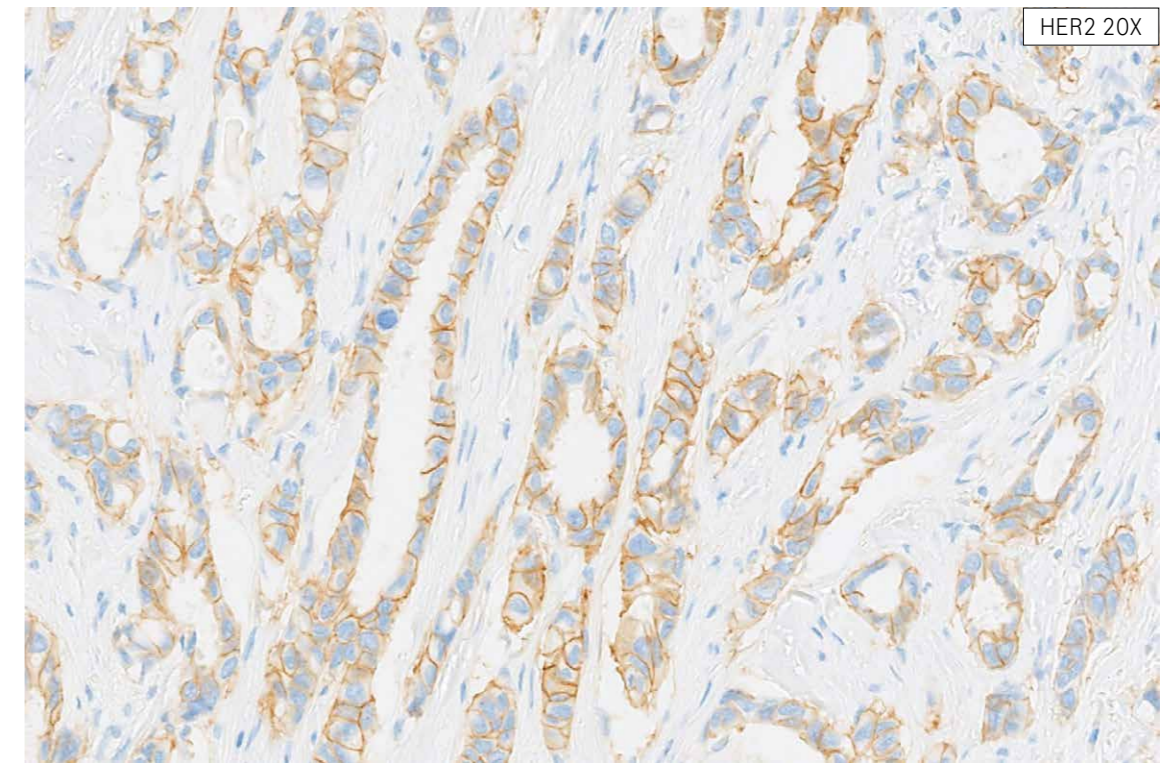
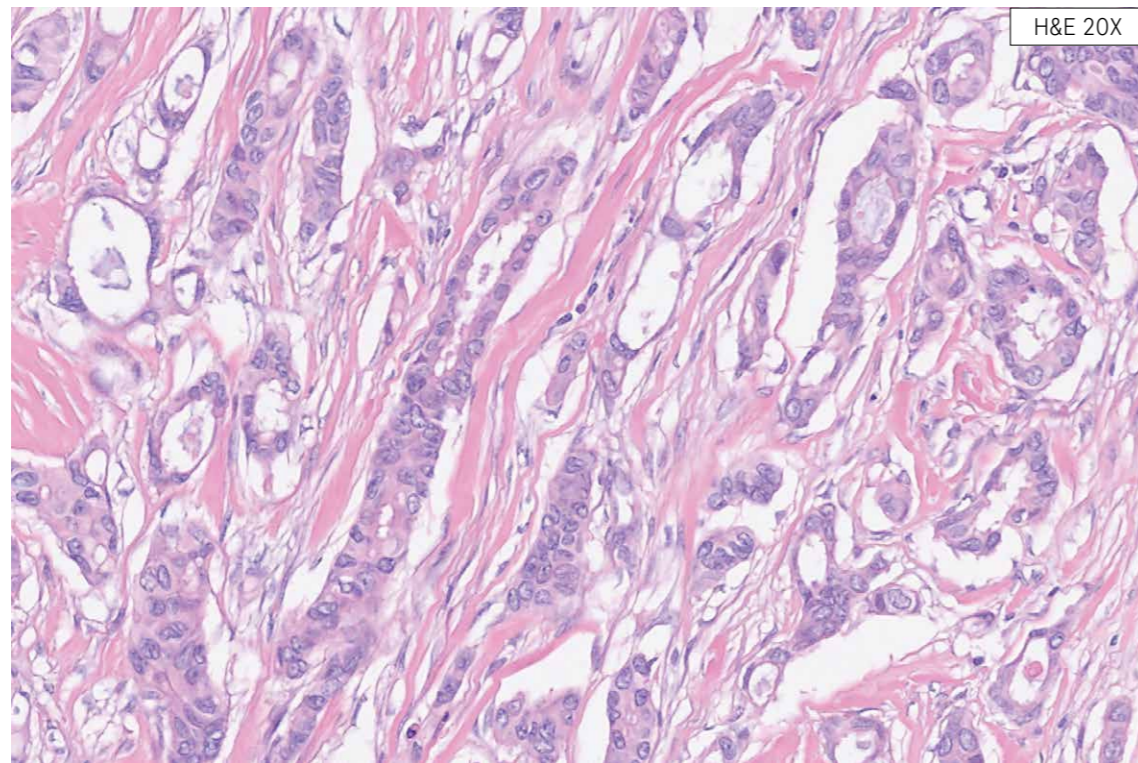
症例4：対物10倍で中等度の完全な膜染色が認められる。倍率を高くすると、弱い完全な膜染色と弱い不完全な膜染色が認められる。この症例は全体の50%の完全な膜染色を示し、HER2 IHCスコア2+と判定された。



■参考症例

HER2 IHCスコア2+

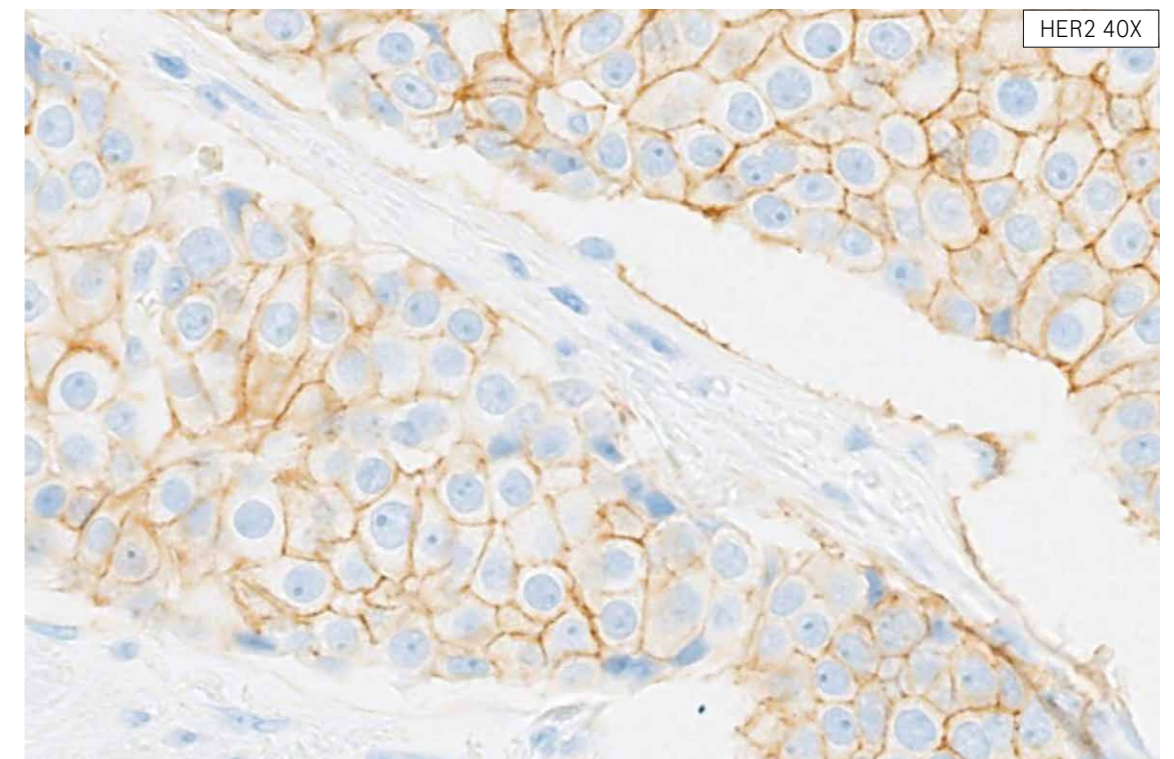
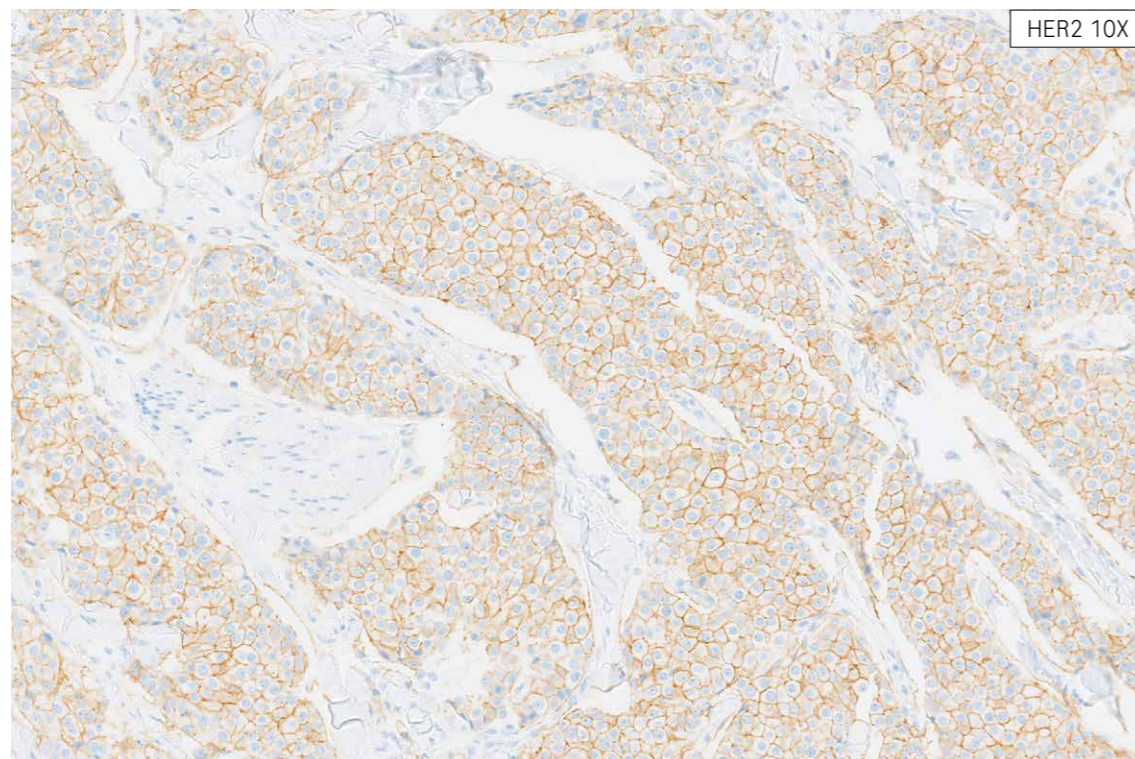
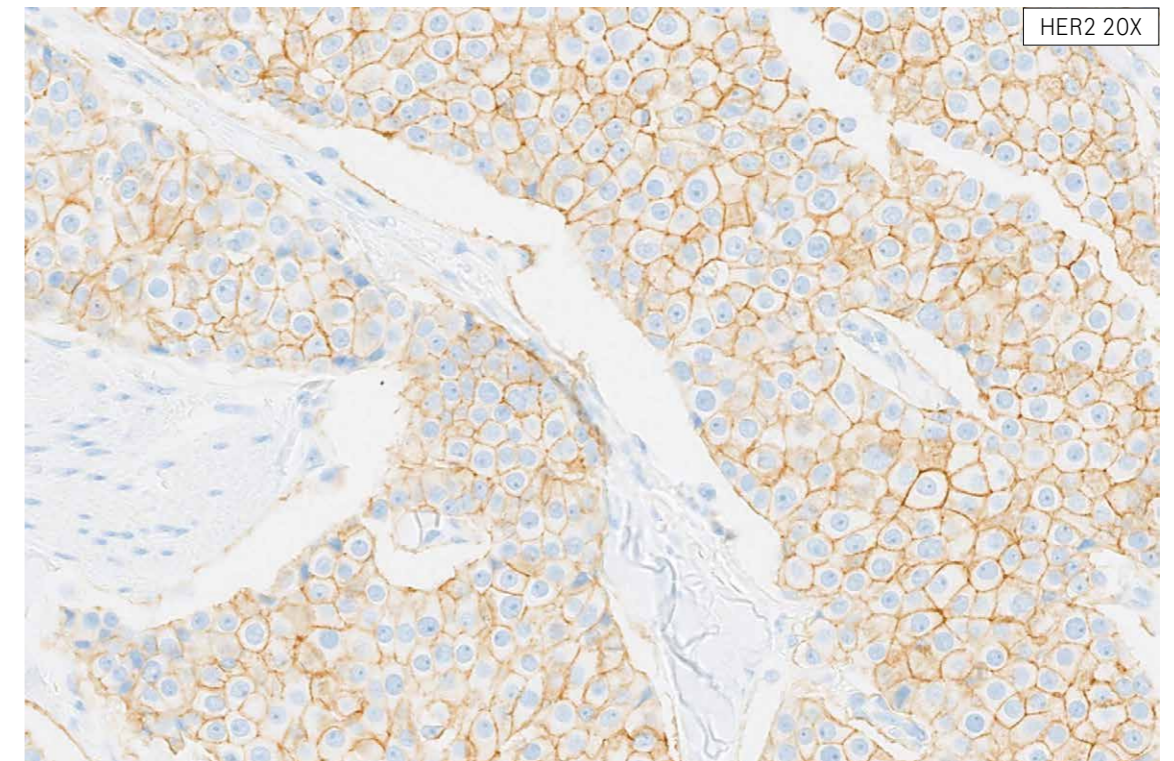
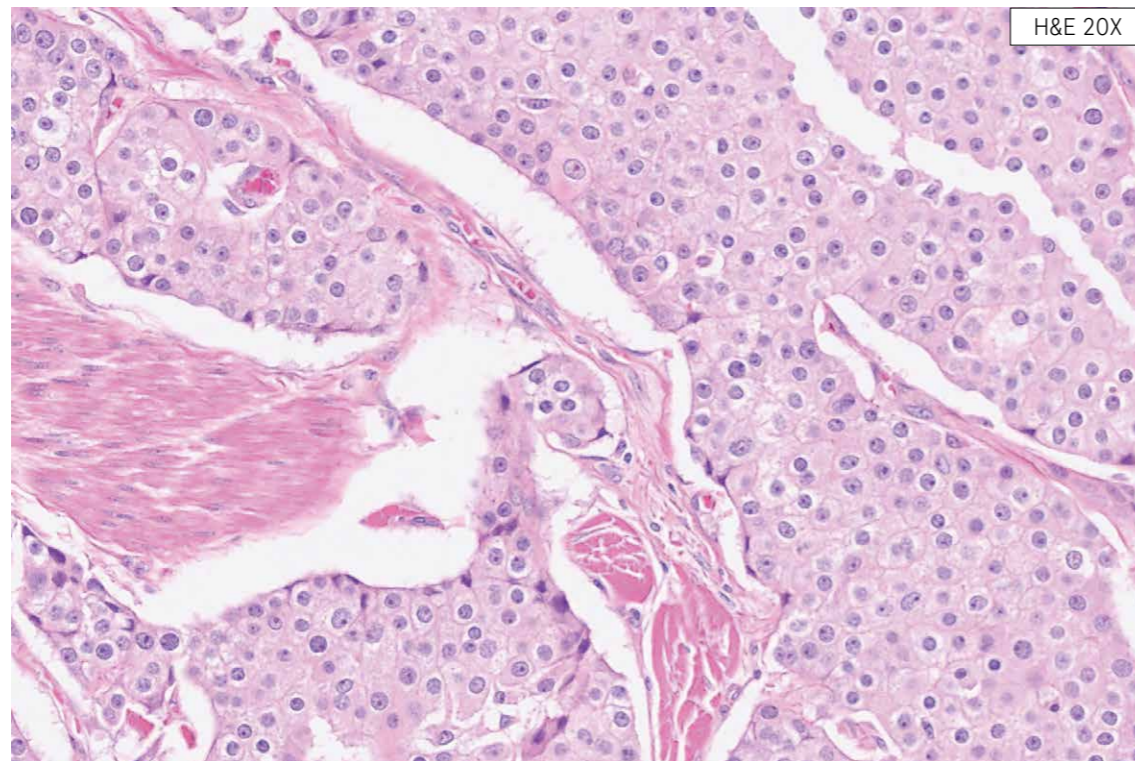
症例5：対物10倍で完全な中等度の膜染色が部分的に認められる。しかし、弱い膜染色が大半を占めており、細胞個々の染色性を鑑別するには倍率をあげての確認が必要である。不完全なすかな膜染色のほか、細胞質への染色も認められる。この症例は腫瘍細胞全体の65%に完全な弱～中等度の膜染色を示す (HER2 IHCスコア2+)。



■参考症例

HER2 IHCスコア2+

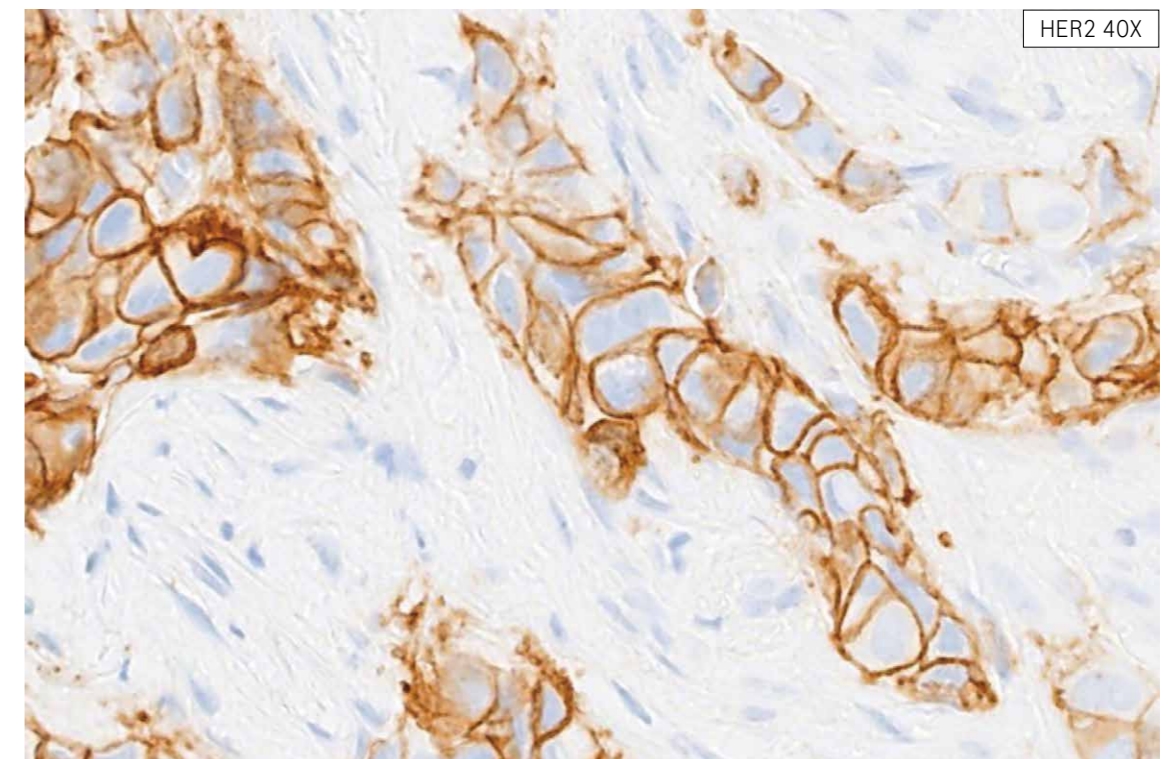
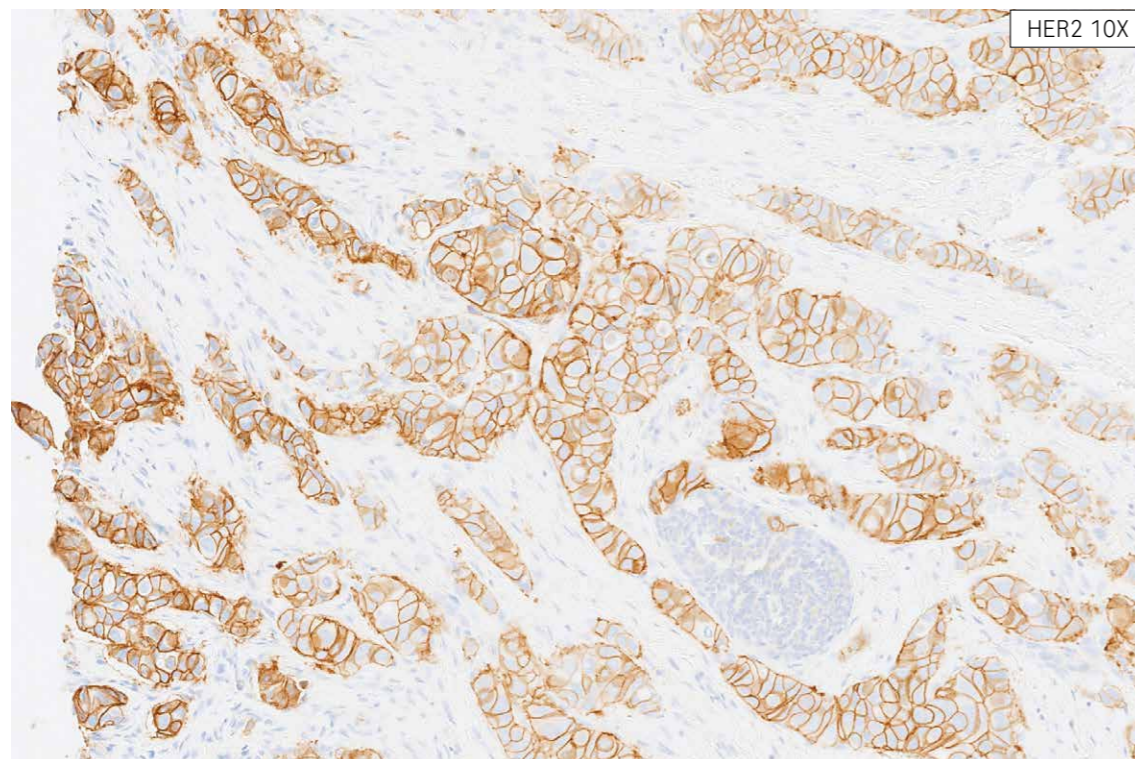
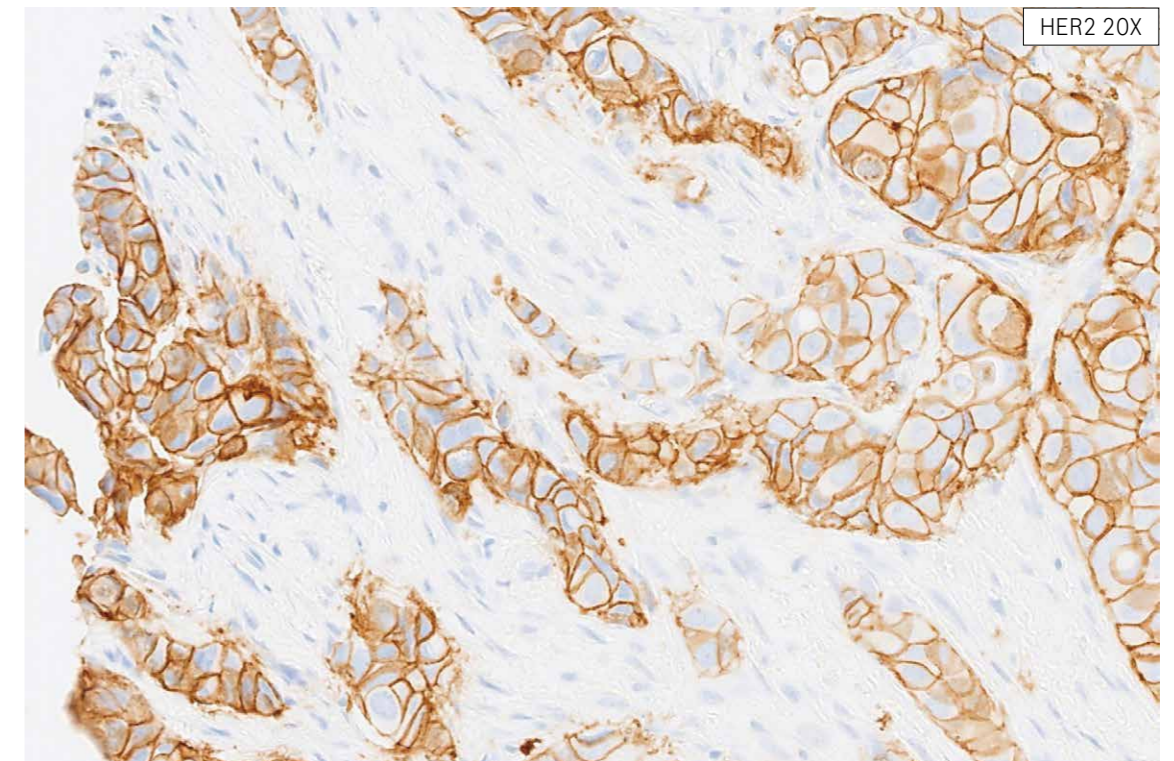
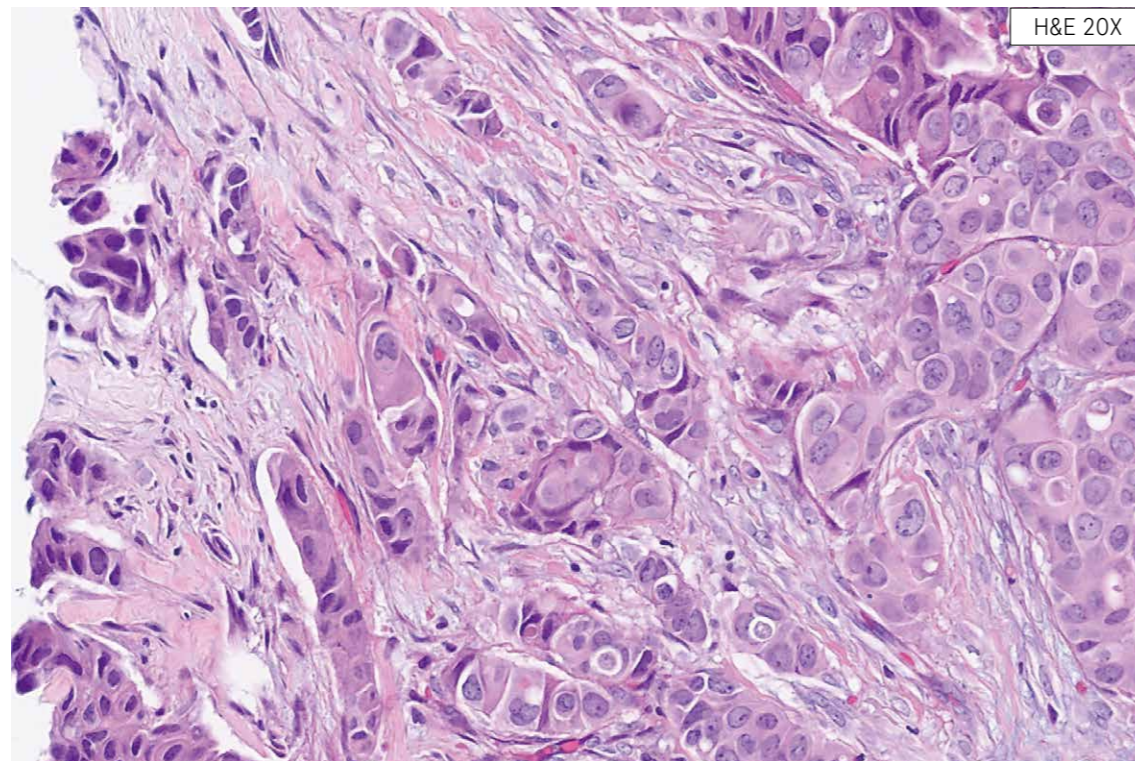
症例6：対物10倍で完全な中等度の膜染色が認められる。倍率をあげて確認すると完全な弱い膜染色のほか、弱～中等度の不完全な膜染色が見える。リング状に弱～中等度の染色された腫瘍細胞をHER2 2+スコアリングの対象とする必要がある。この症例は腫瘍全体の75%に完全な弱～中等度の膜染色を示す(HER2 IHCスコア2+)。



■参考症例

HER2 IHCスコア3+

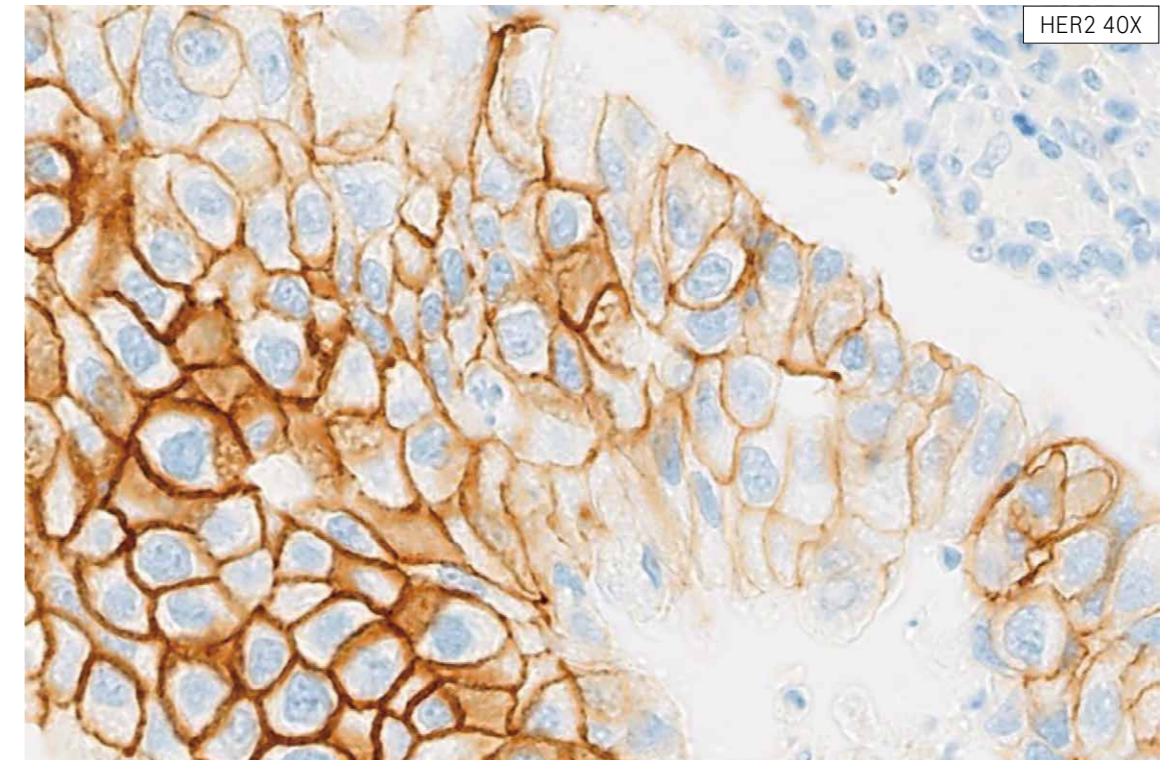
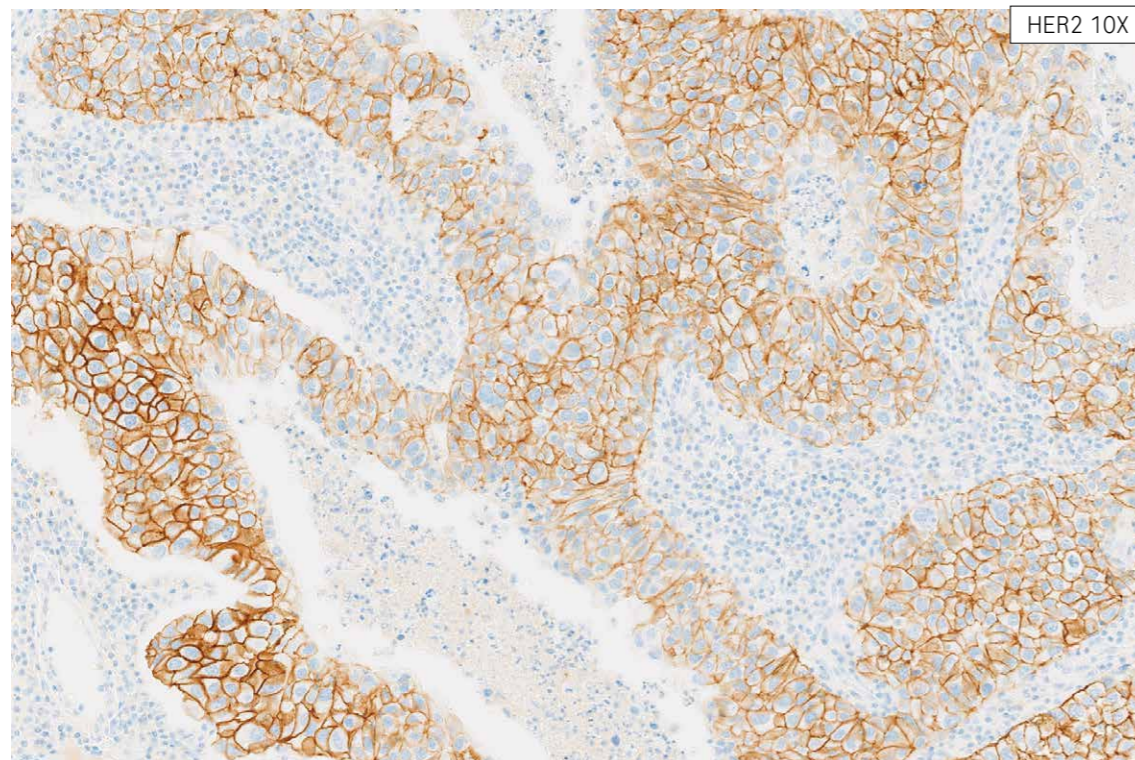
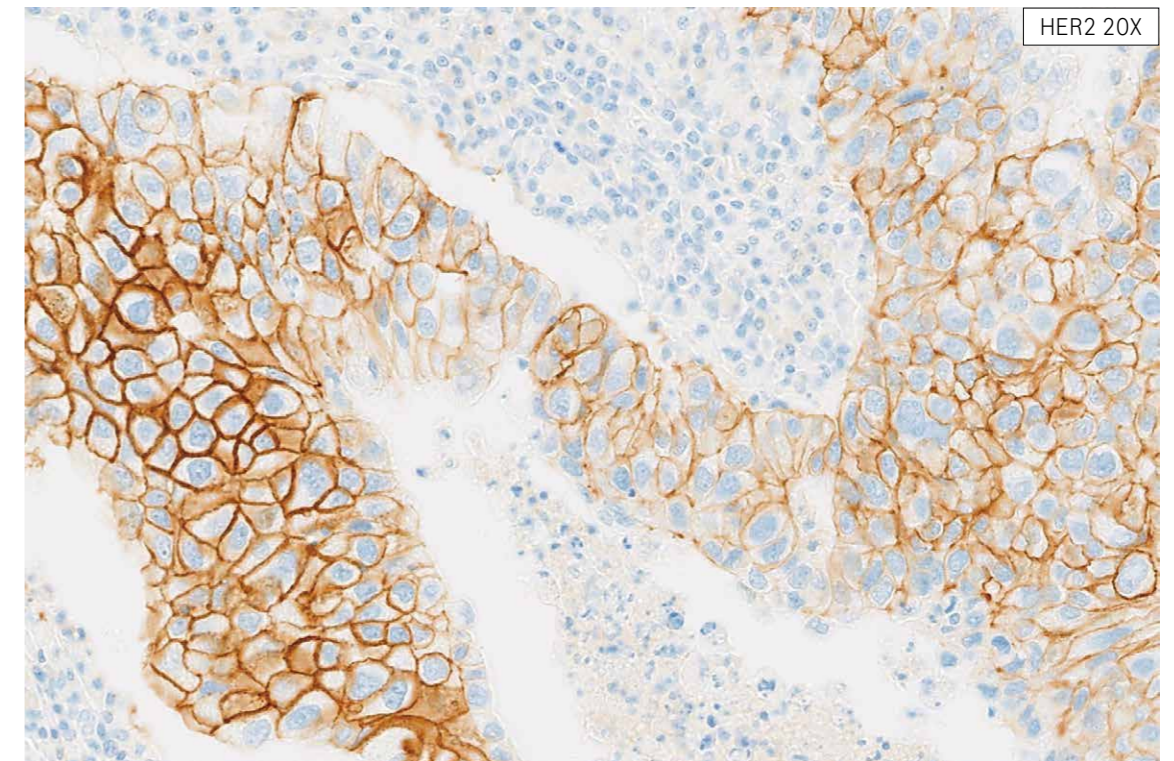
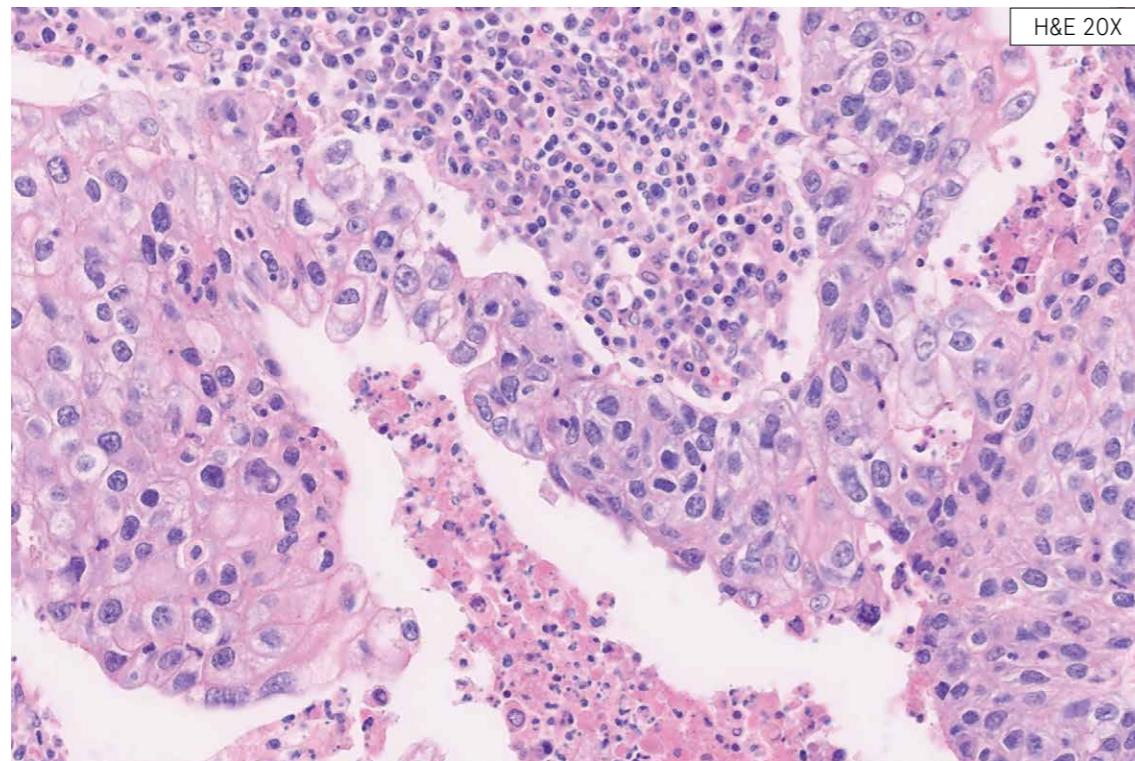
症例1：浸潤性の腫瘍とDCISの病巣が認められる。中等度～強い完全な膜染色のほか、細胞質への染色が認められる。許容範囲のごくわずかなバックグラウンド染色が認められる。この症例は3+相当の染色が腫瘍全体の15%を占め (HER2 IHCスコア3+)、3+の境界域に近いため、判定が難しい。



■参考症例

HER2 IHCスコア3+

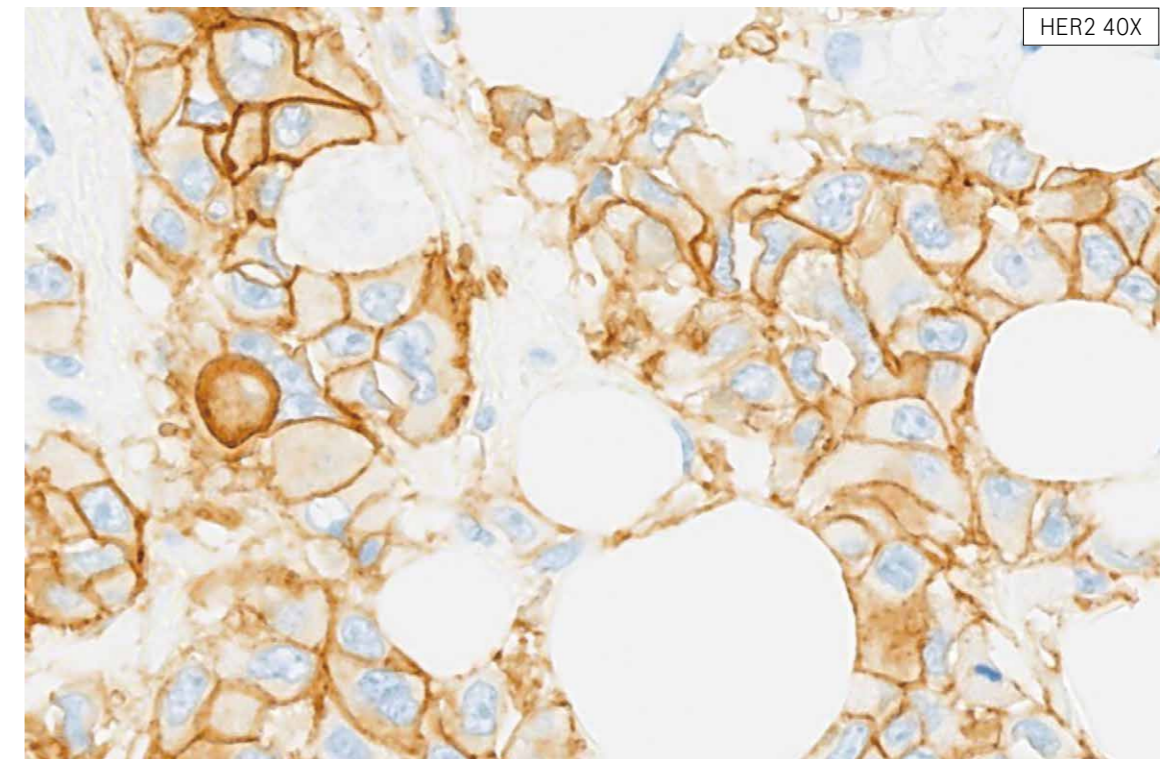
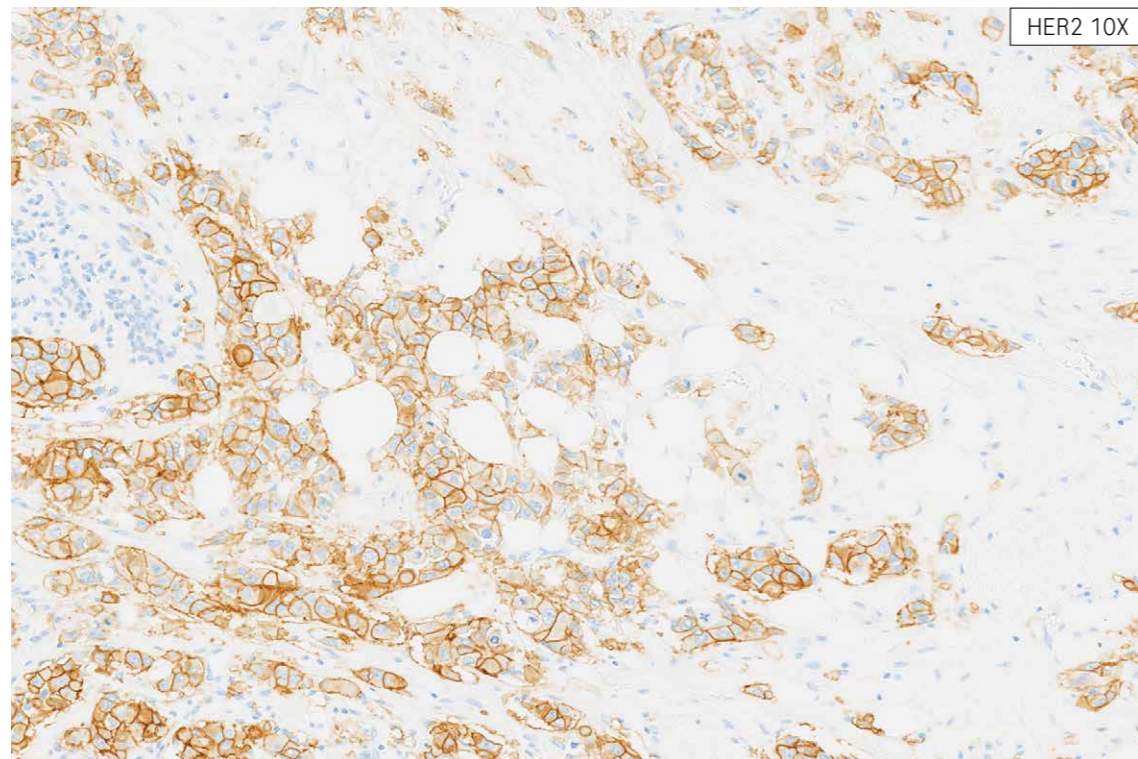
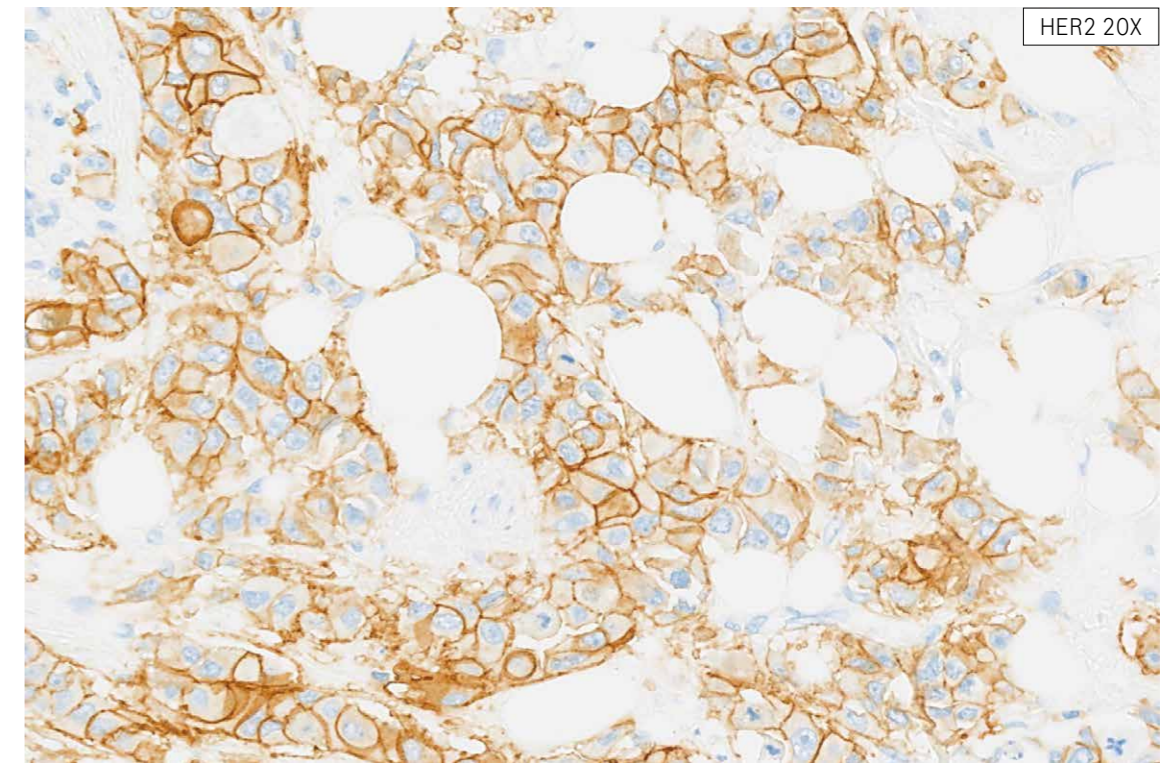
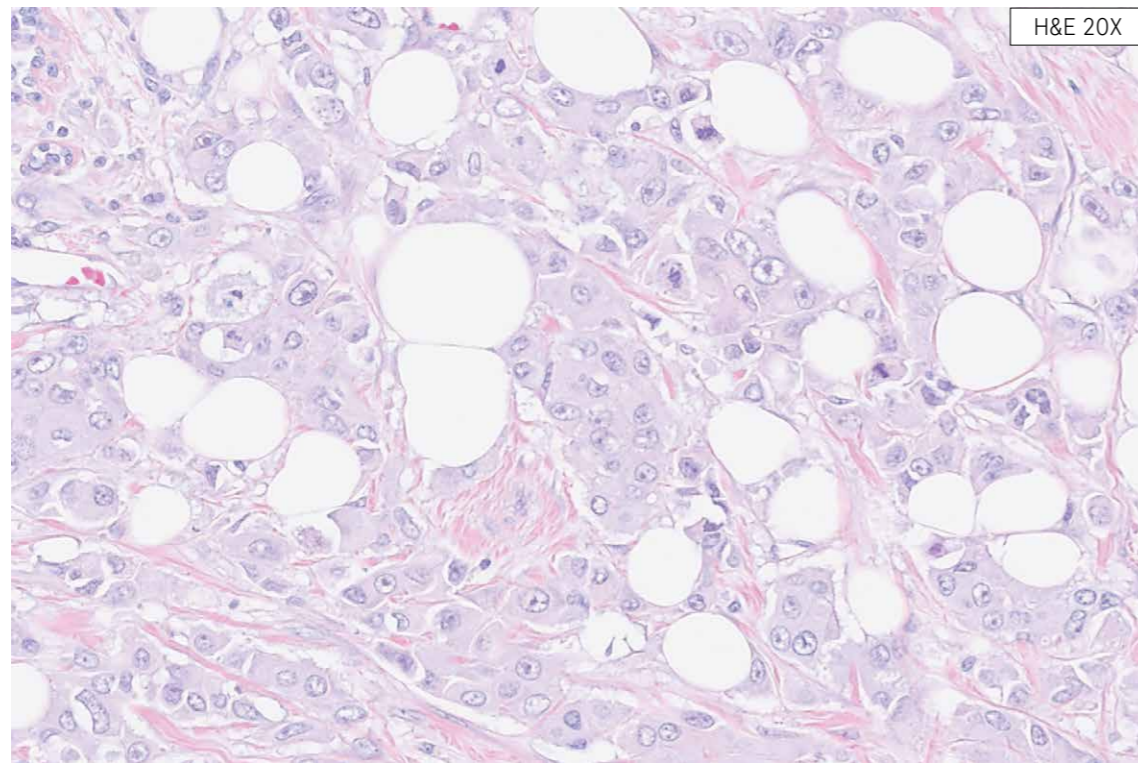
症例2：多くの壊死成分を含む腫瘍が認められる。不均一な弱～中等度～強い膜染色を呈する。完全な膜染色の大部分は弱～中等度であるが、腫瘍細胞の全体の20%に完全な強い膜染色を示す。この症例はHER2 IHC 3+と判定された。



■参考症例

HER2 IHCスコア3+

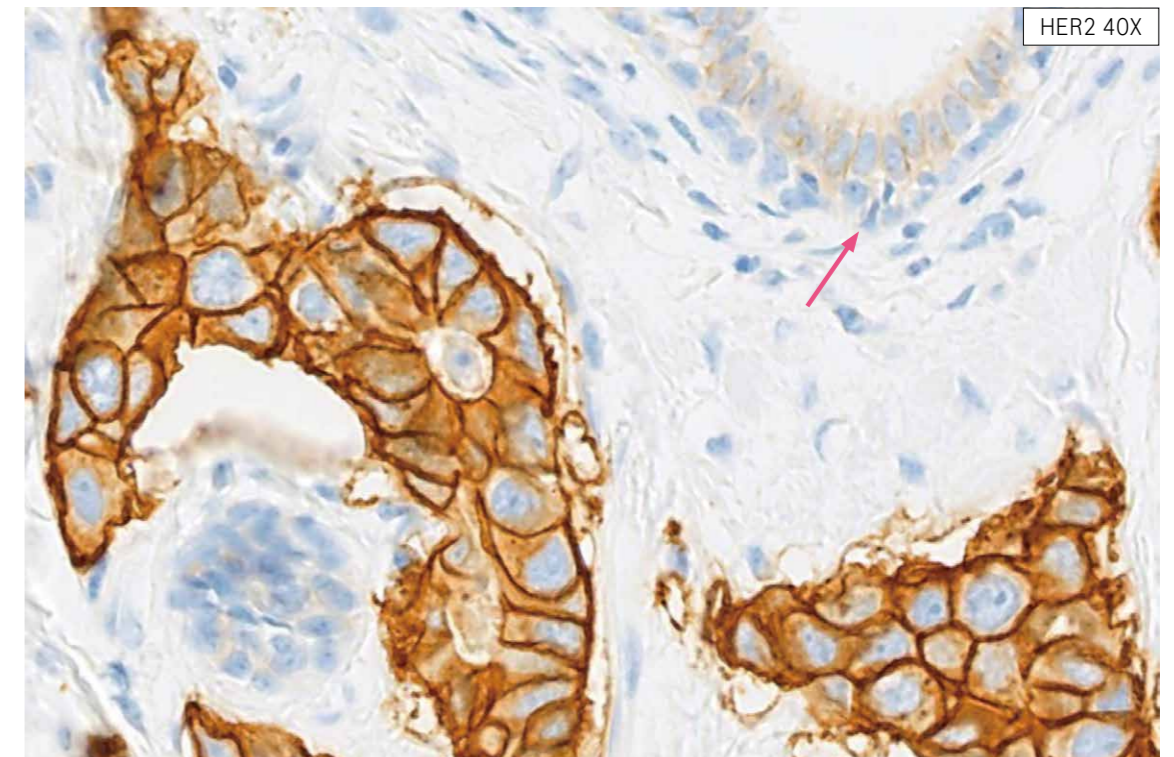
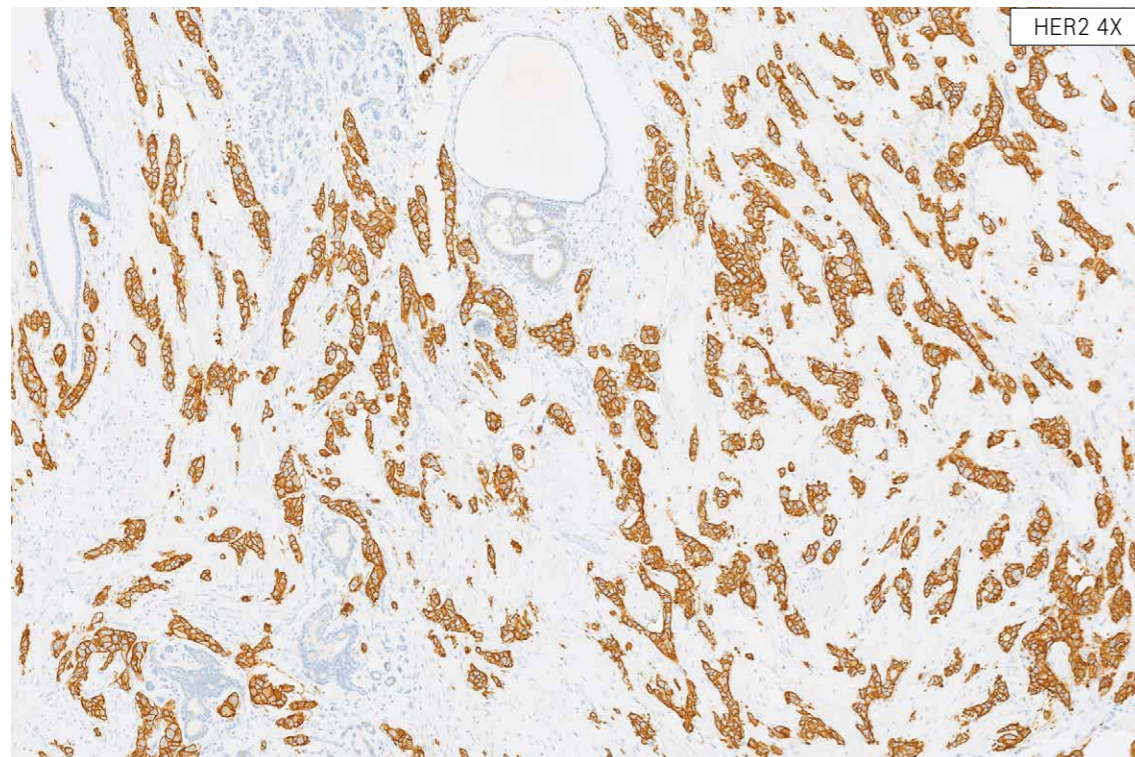
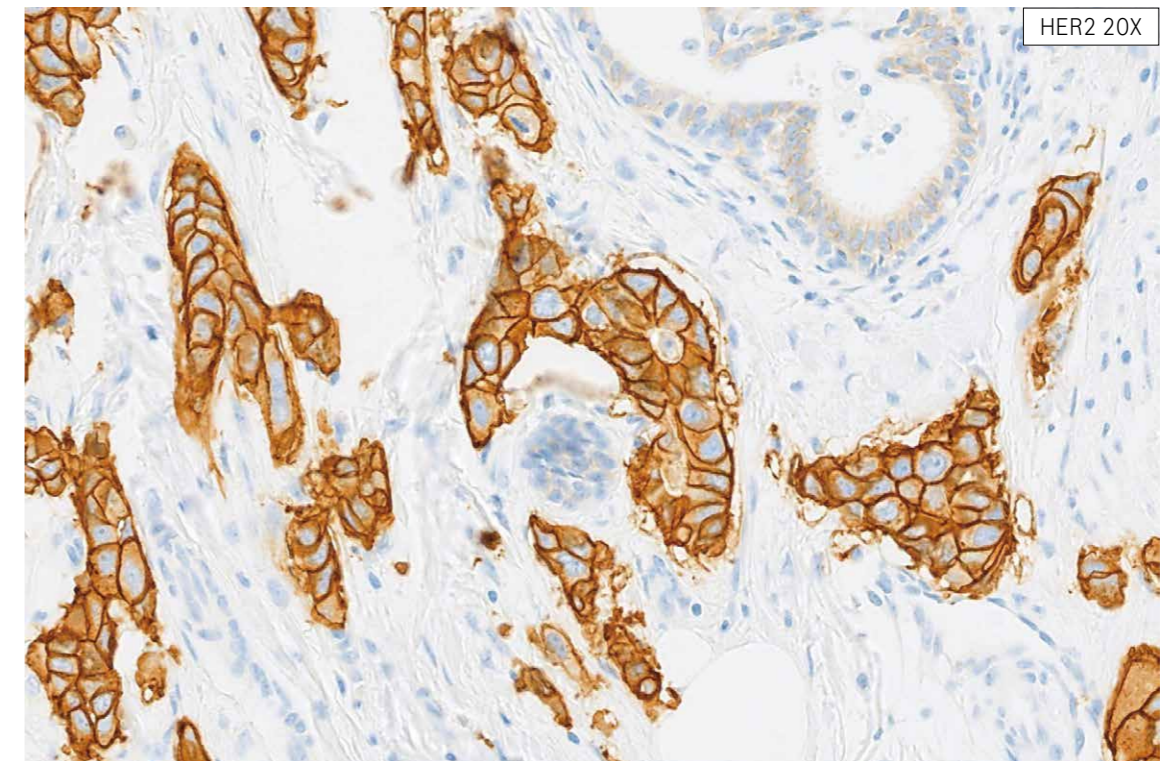
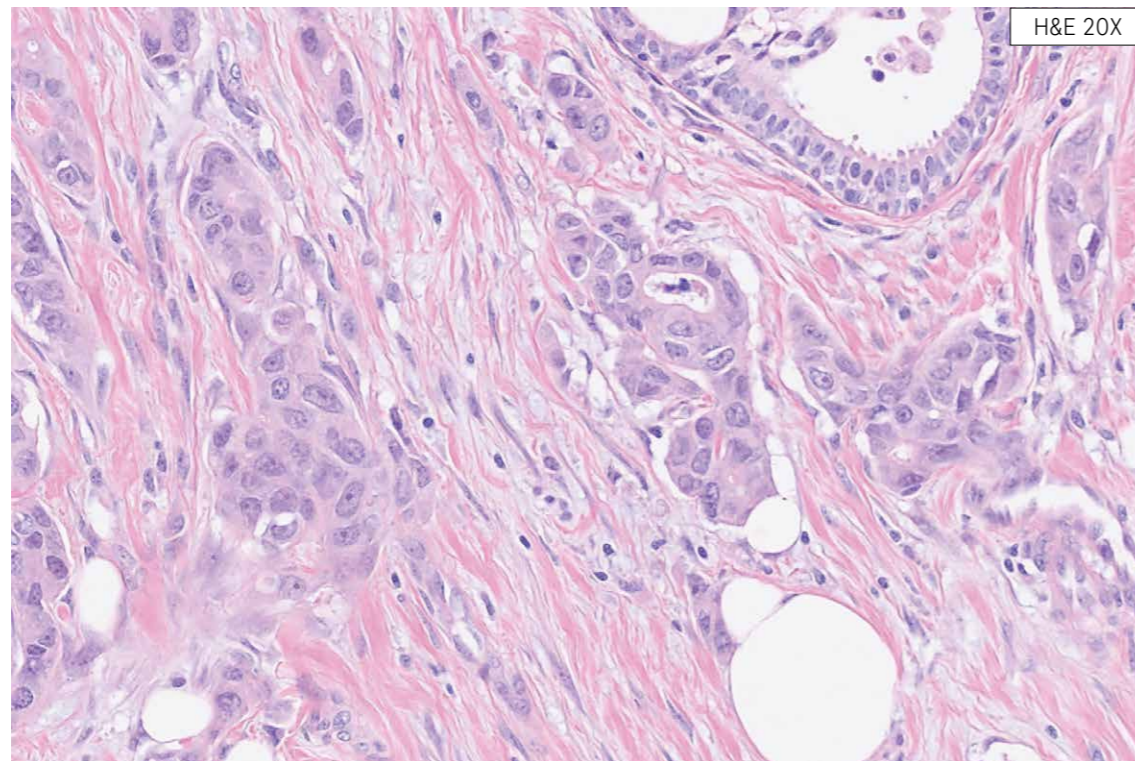
症例3: ヘテロジェナイティが認められる。組織全体の腫瘍細胞の45%に完全な、強く濃い膜染色を示す。そのほか、細胞質への染色が認められる。



■参考症例

HER2 IHCスコア3+

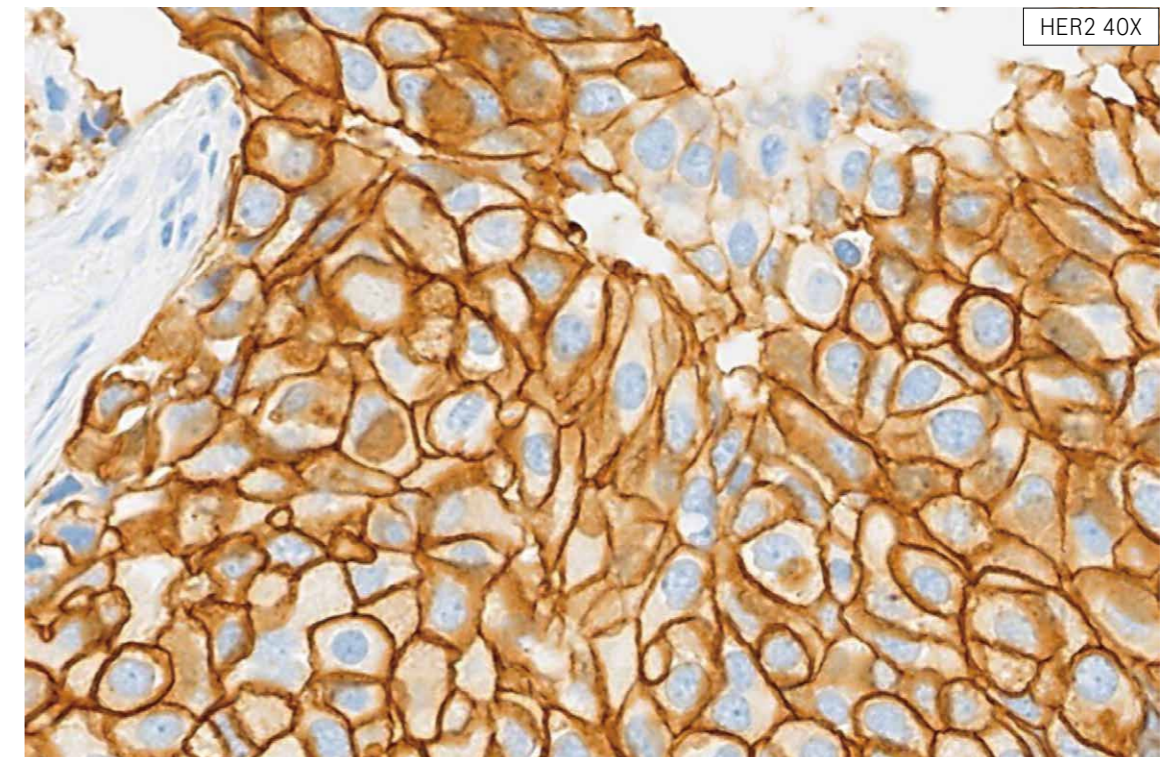
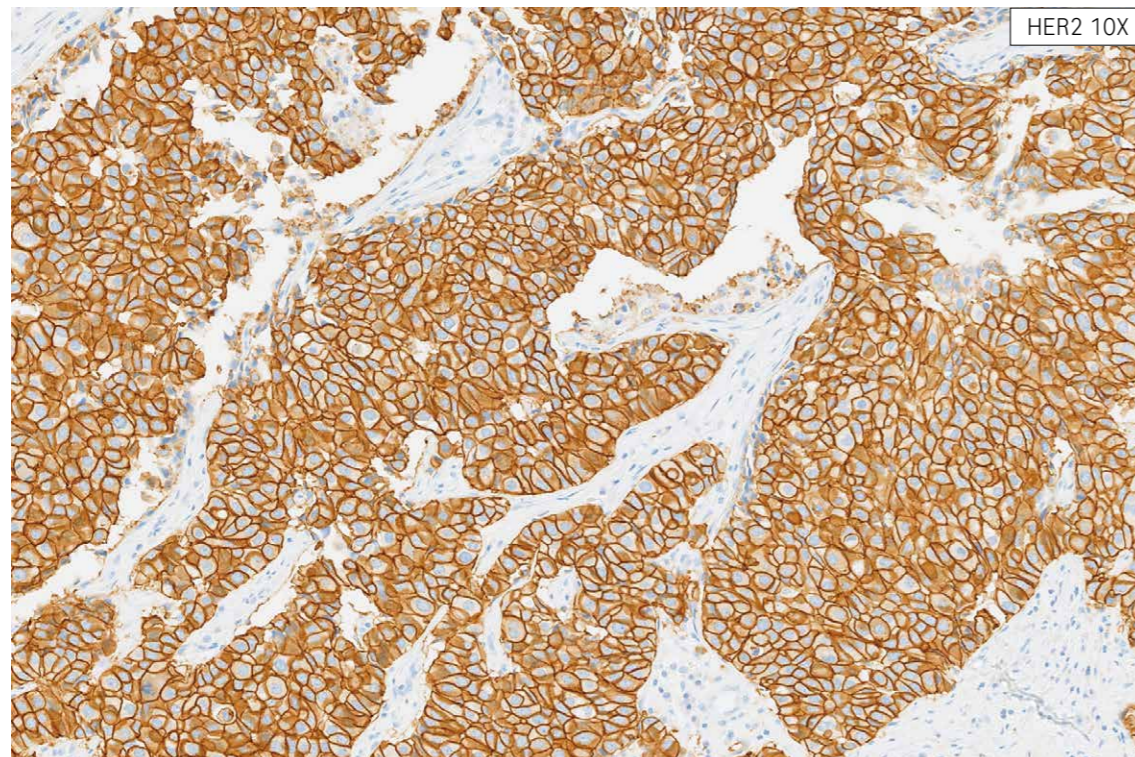
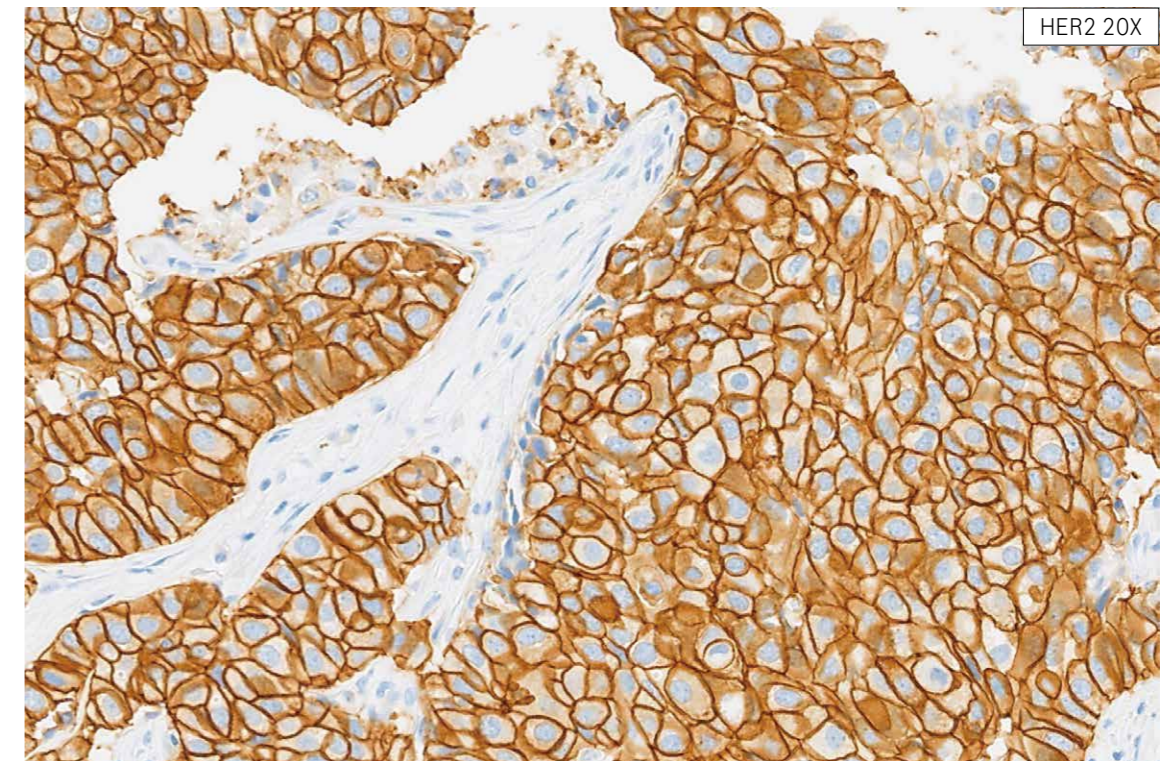
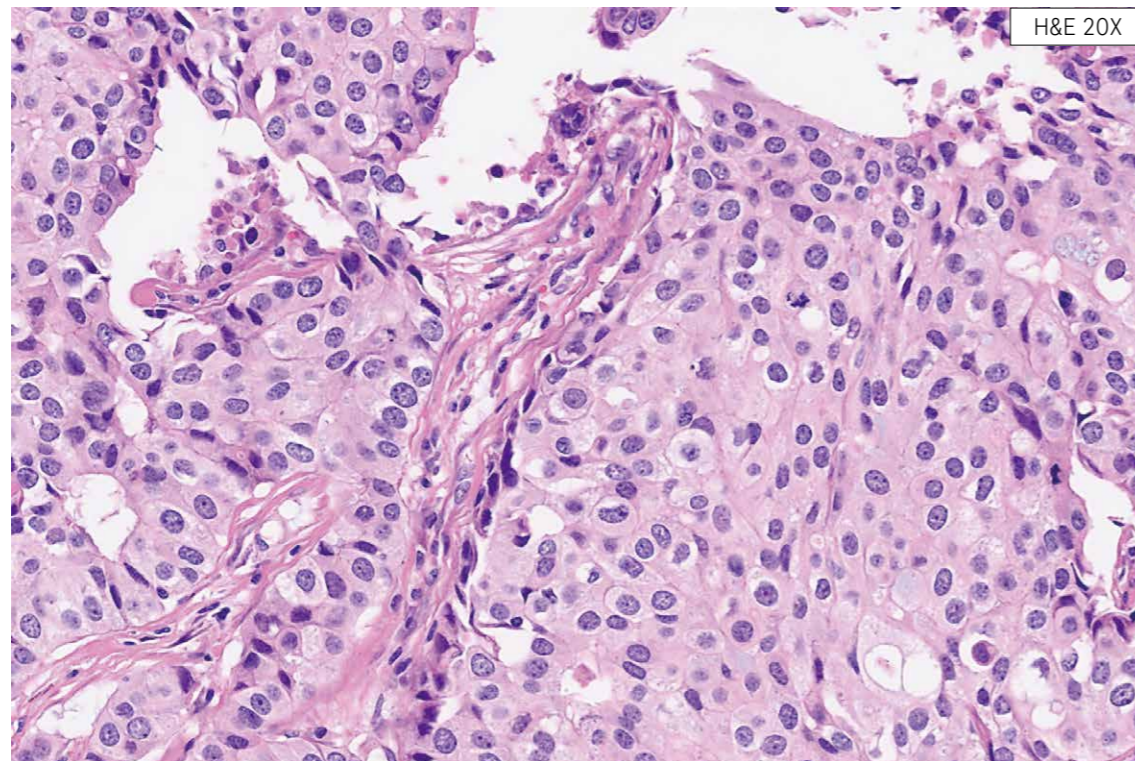
症例4：腫瘍細胞の膜の大部分に完全な強い染色を示す。対物4倍の画像ではそのほか、中等度の完全な膜染色が認められる。非腫瘍性の乳房上皮にかすかな～弱い膜染色のほか、細胞質の染色を認める(矢印)。スコアリングの対象には浸潤性部における腫瘍細胞への染色のみ含める。この症例は腫瘍細胞全体の70%に3+染色が認められた。



■参考症例

HER2 IHCスコア3+

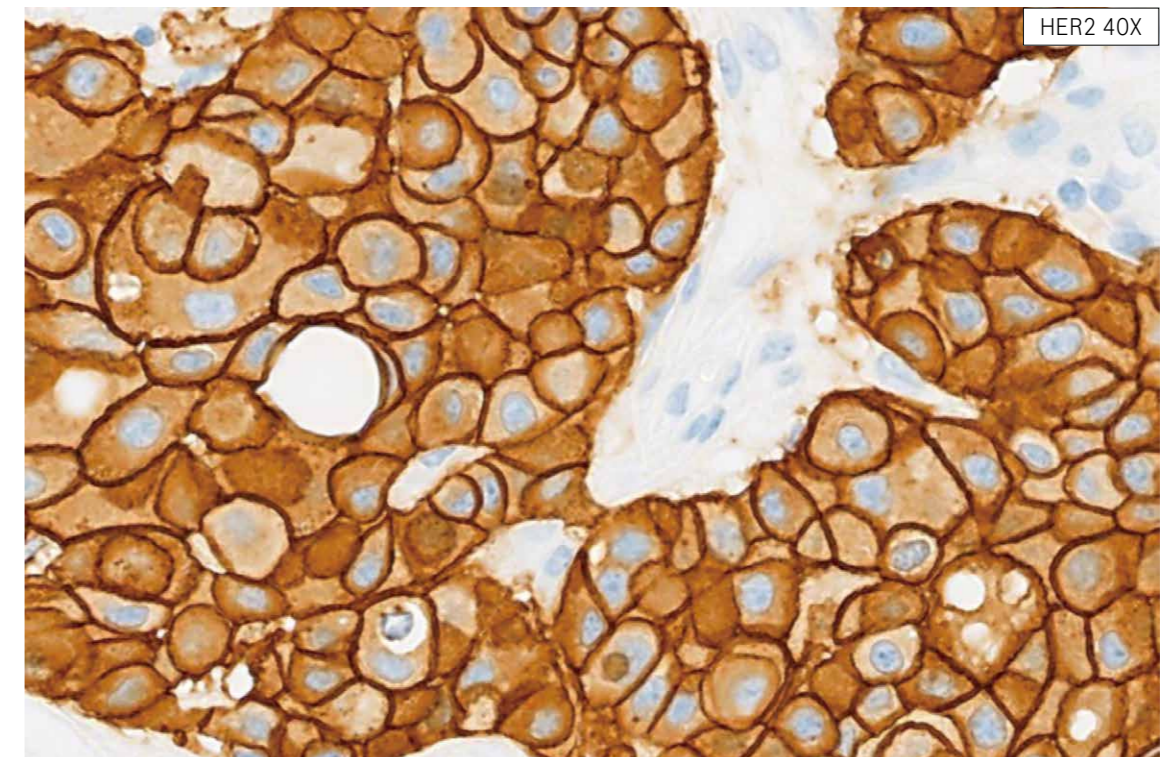
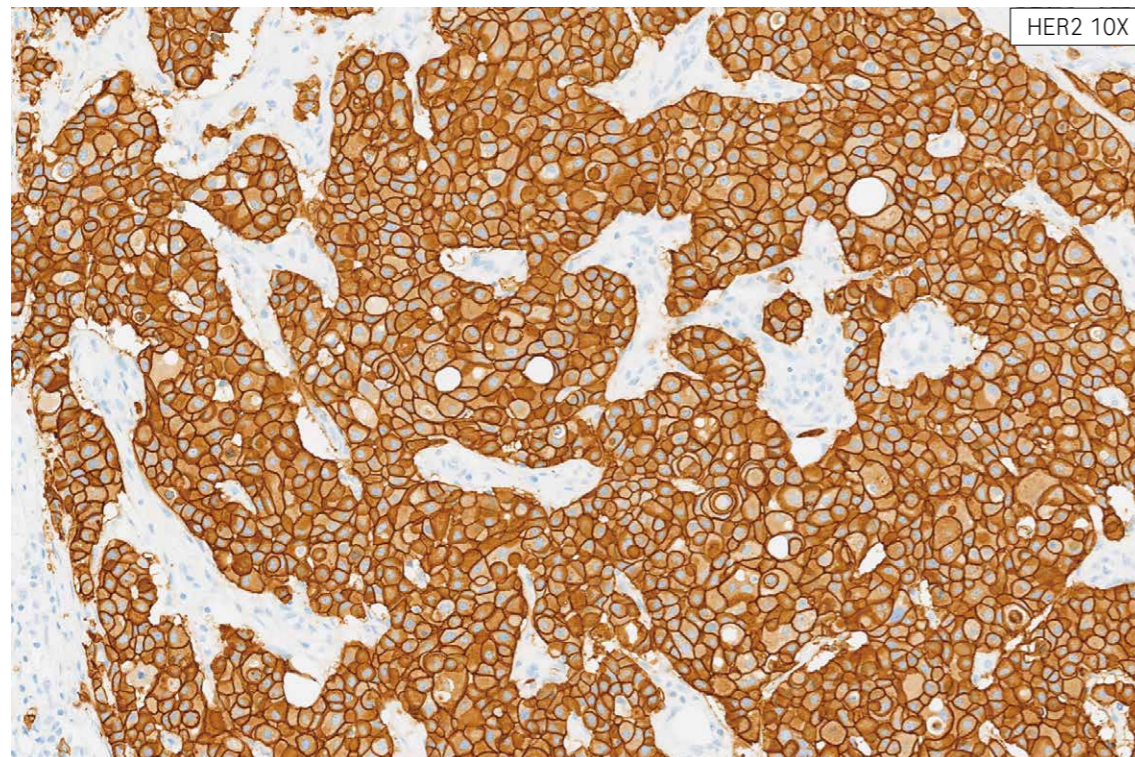
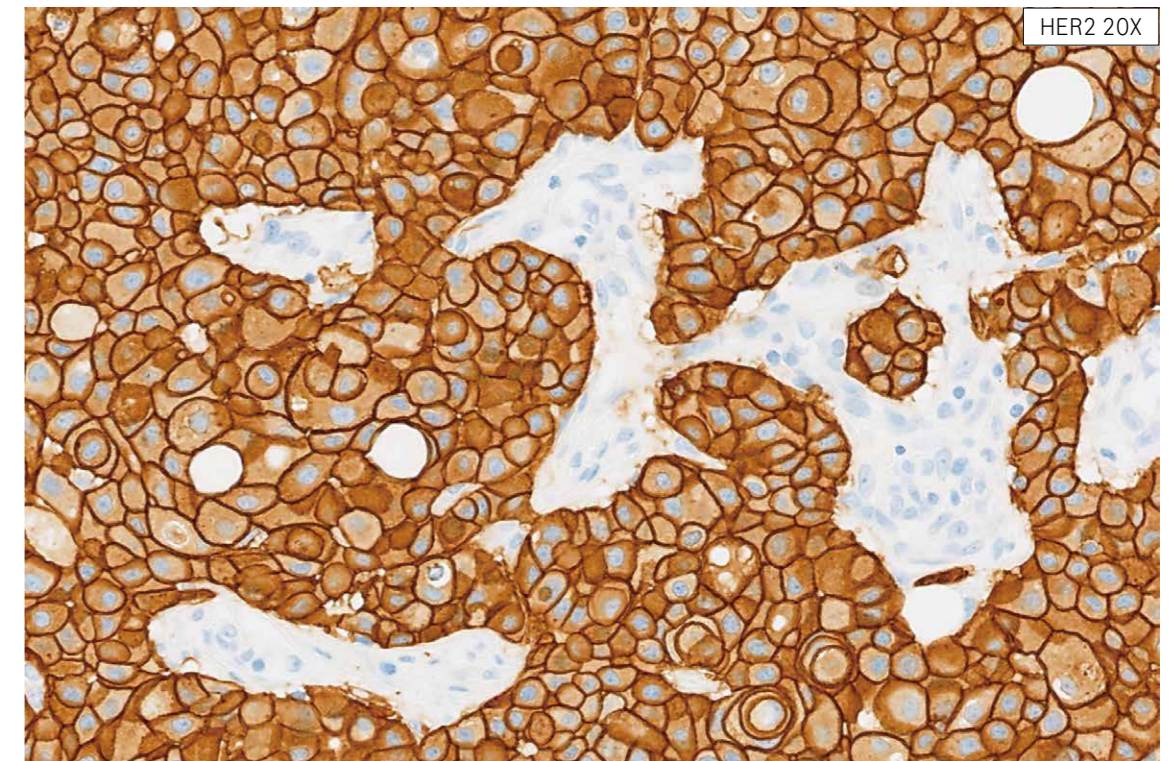
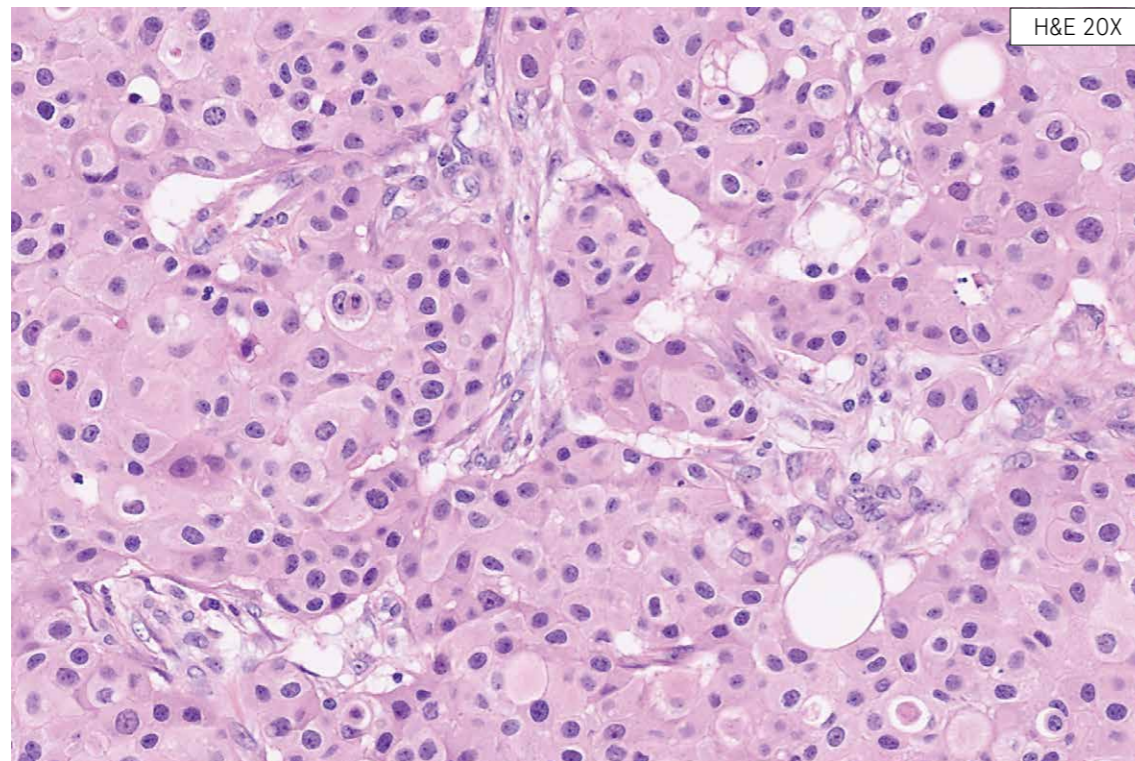
症例5：強い完全な膜染色を示した多くの浸潤性の病変が認められる。組織縁に染色を認める多少の裂隙形成 (retraction artifact) が確認され、腫瘍細胞のすべてが3+の染色を示すわけではない。この症例は10%を大きく上回る完全な強い膜染色を示したわかりやすいHER2 IHCスコア3+症例である。



■参考症例

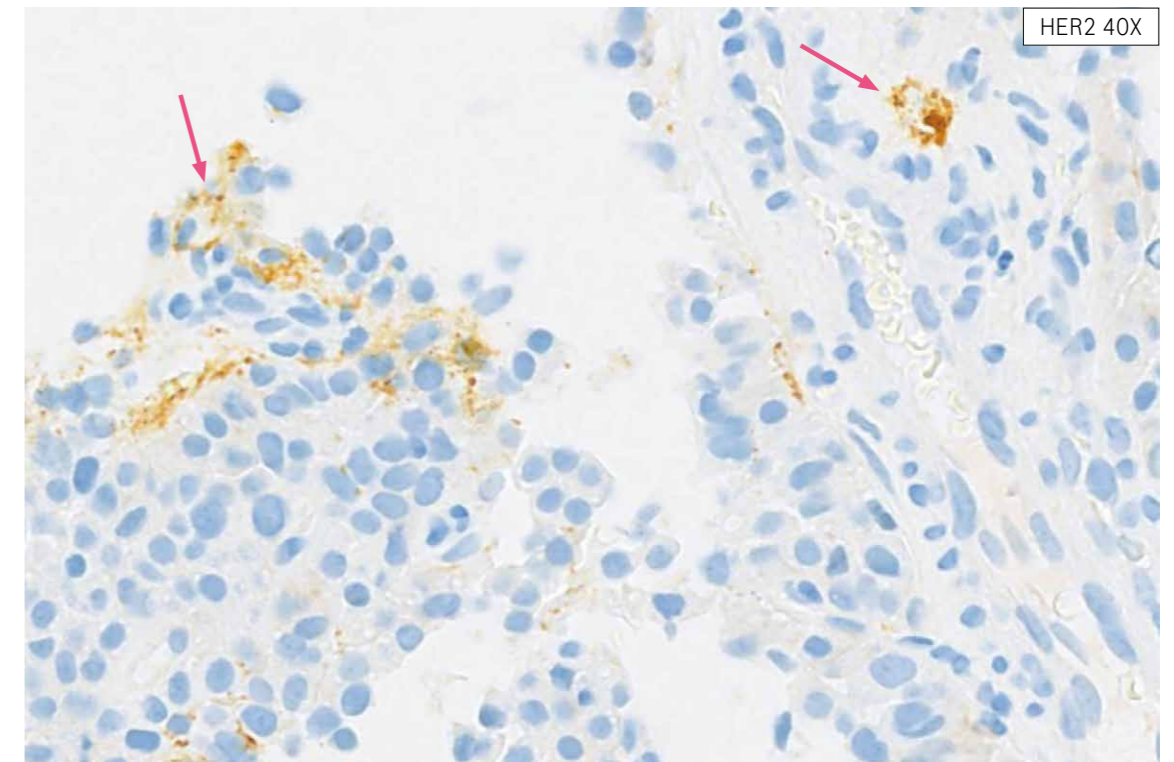
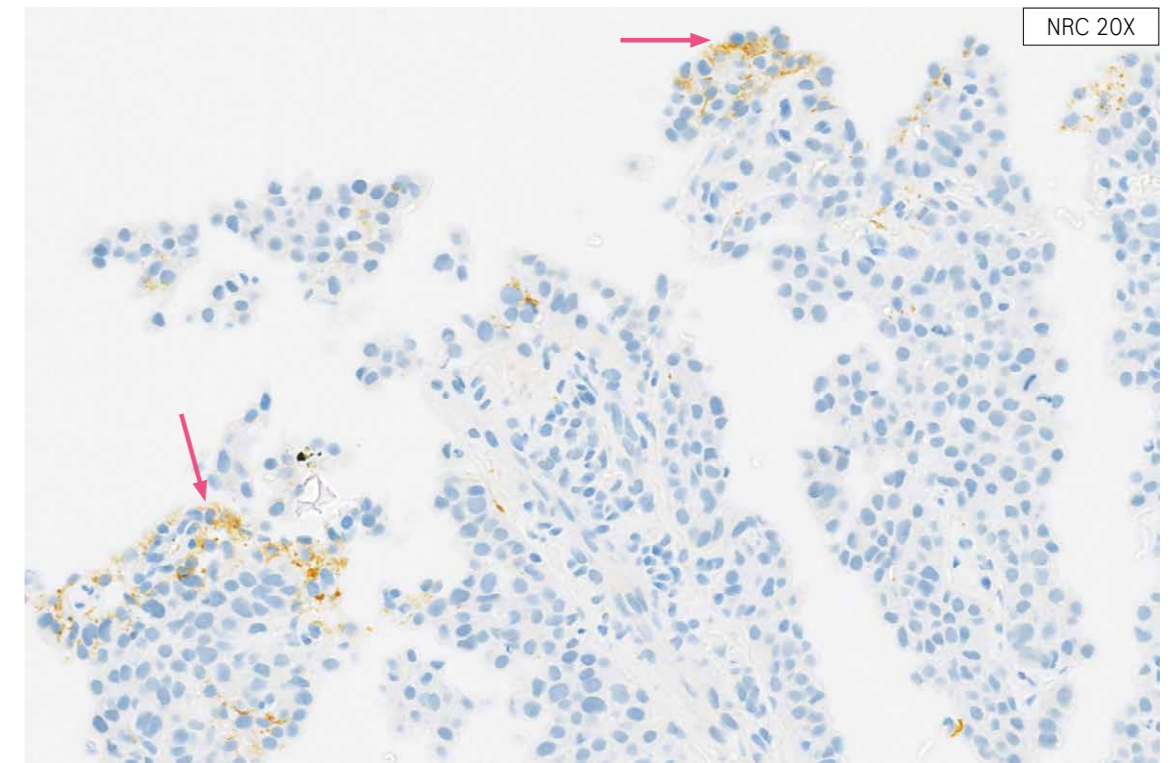
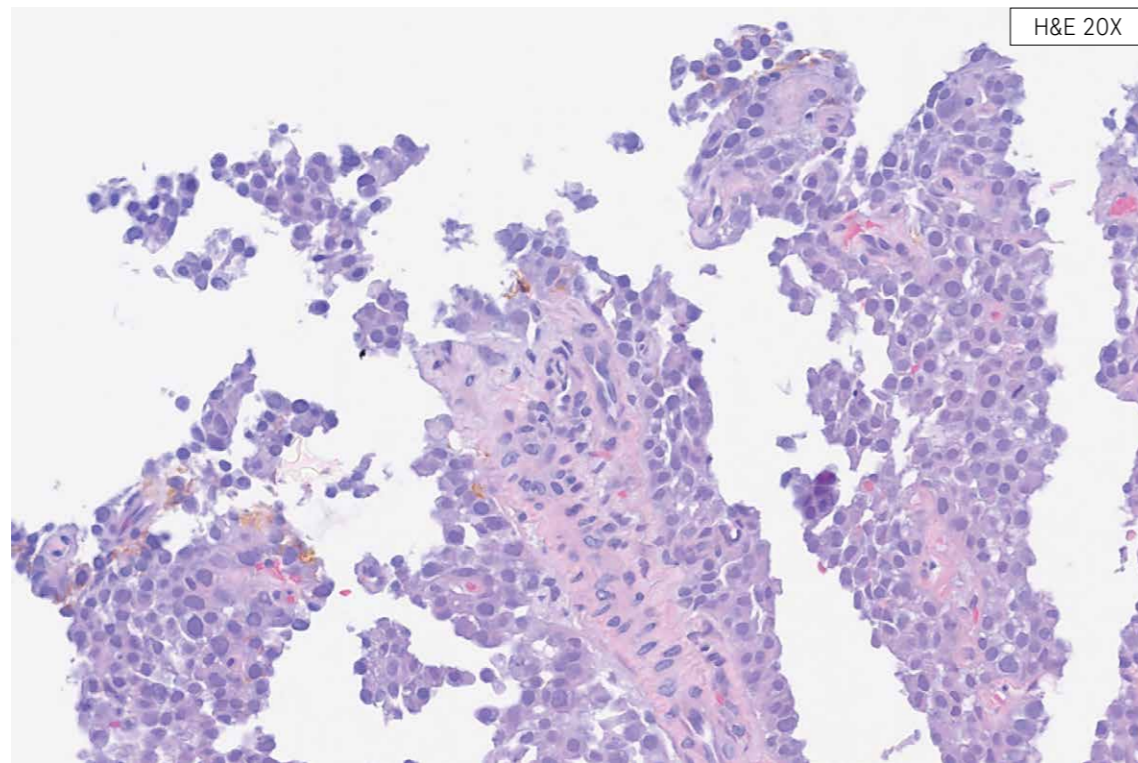
HER2 IHCスコア3+

症例6: ほぼ全ての腫瘍細胞の膜に完全な強い染色が認められる。濃く、強いリング状の染色が認められ、膜の輪郭がはっきりしていることに注目。



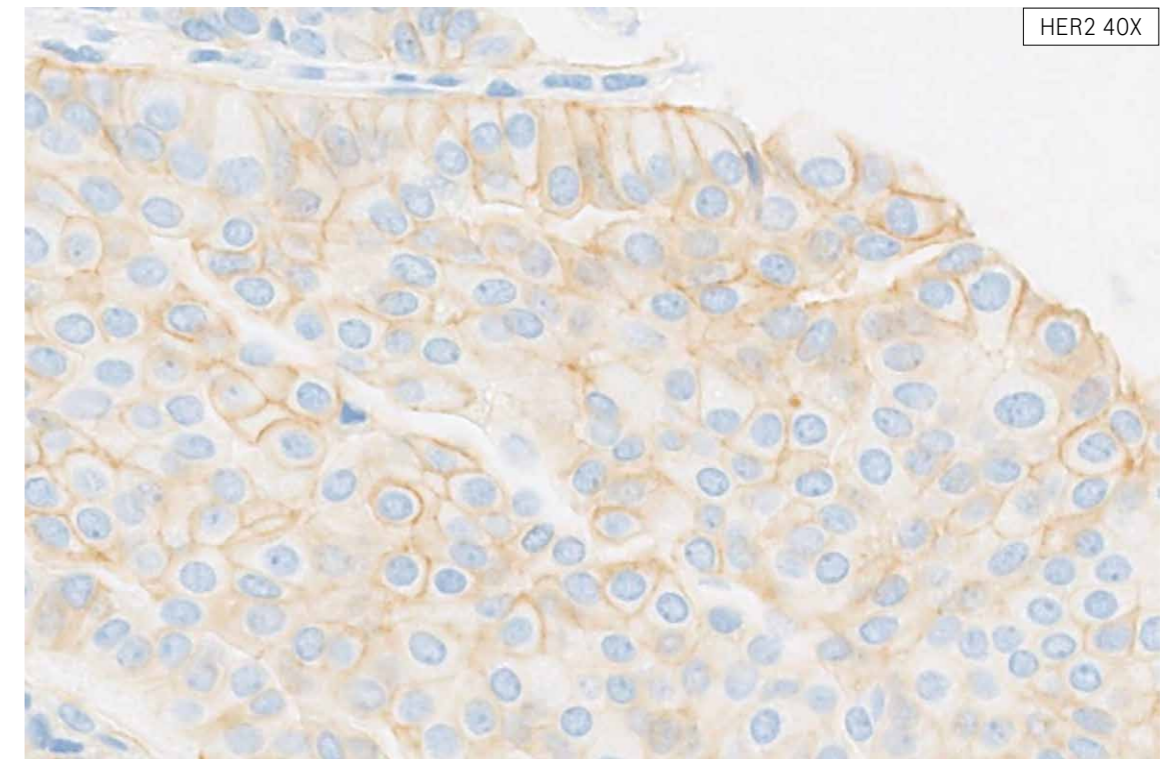
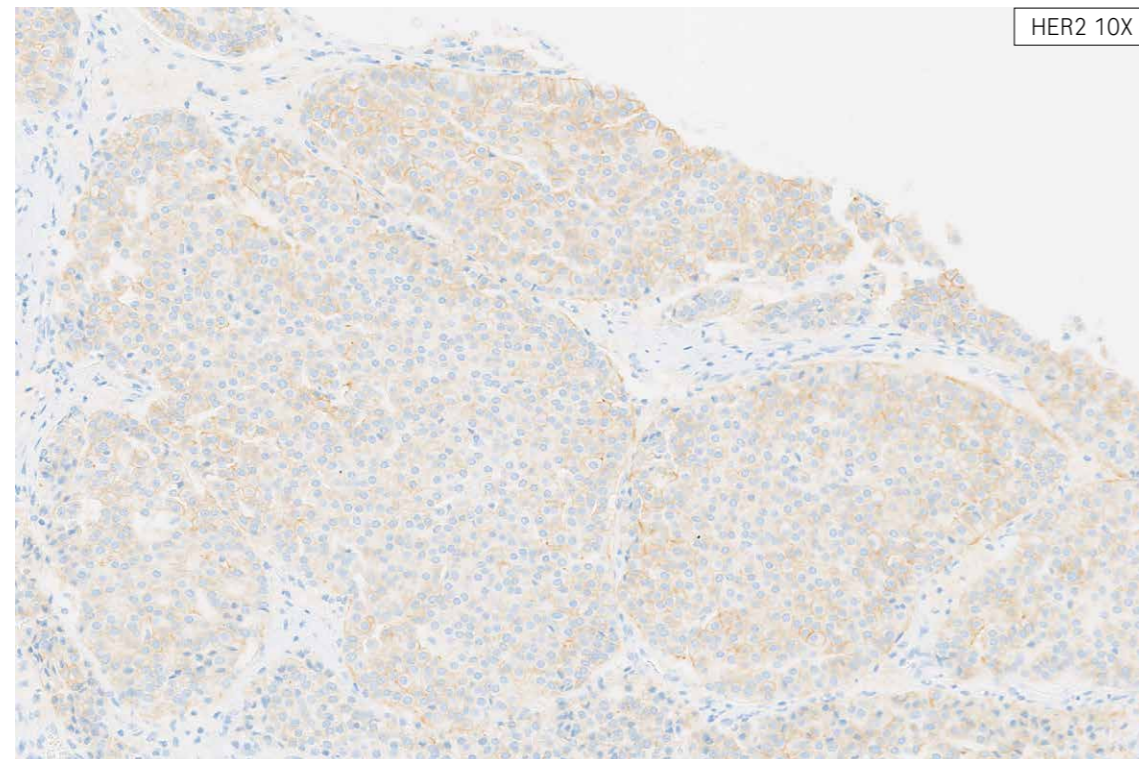
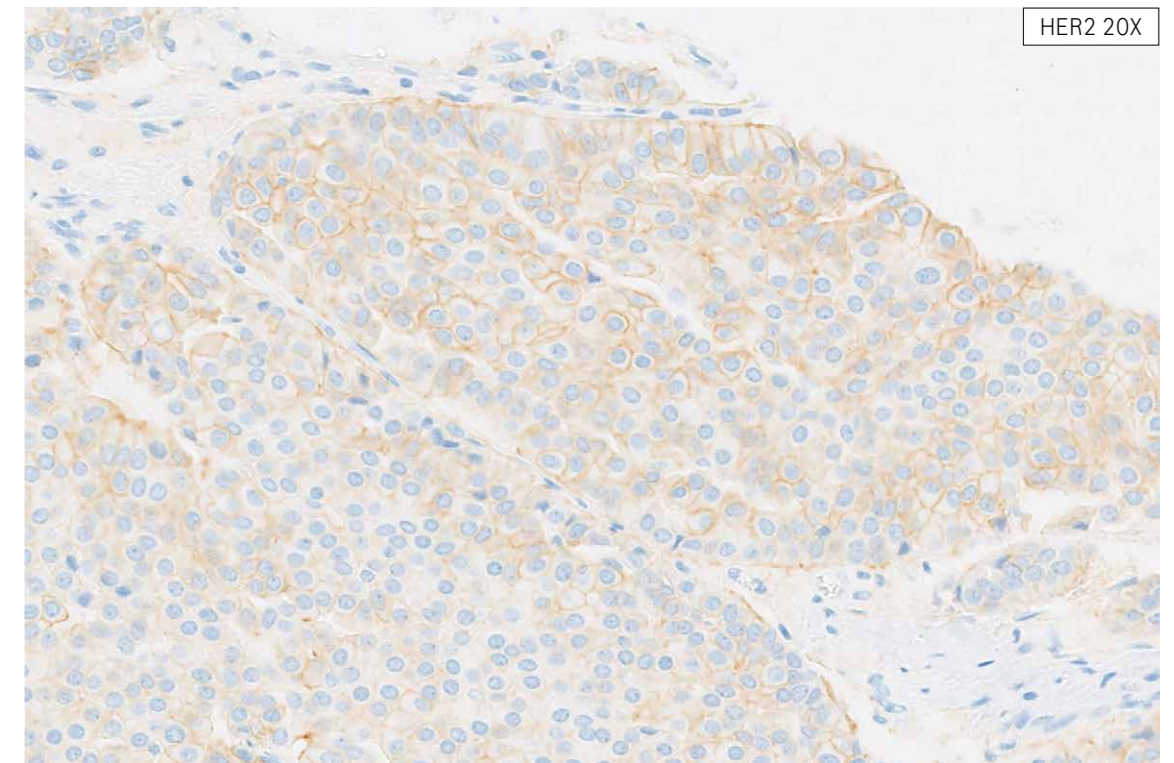
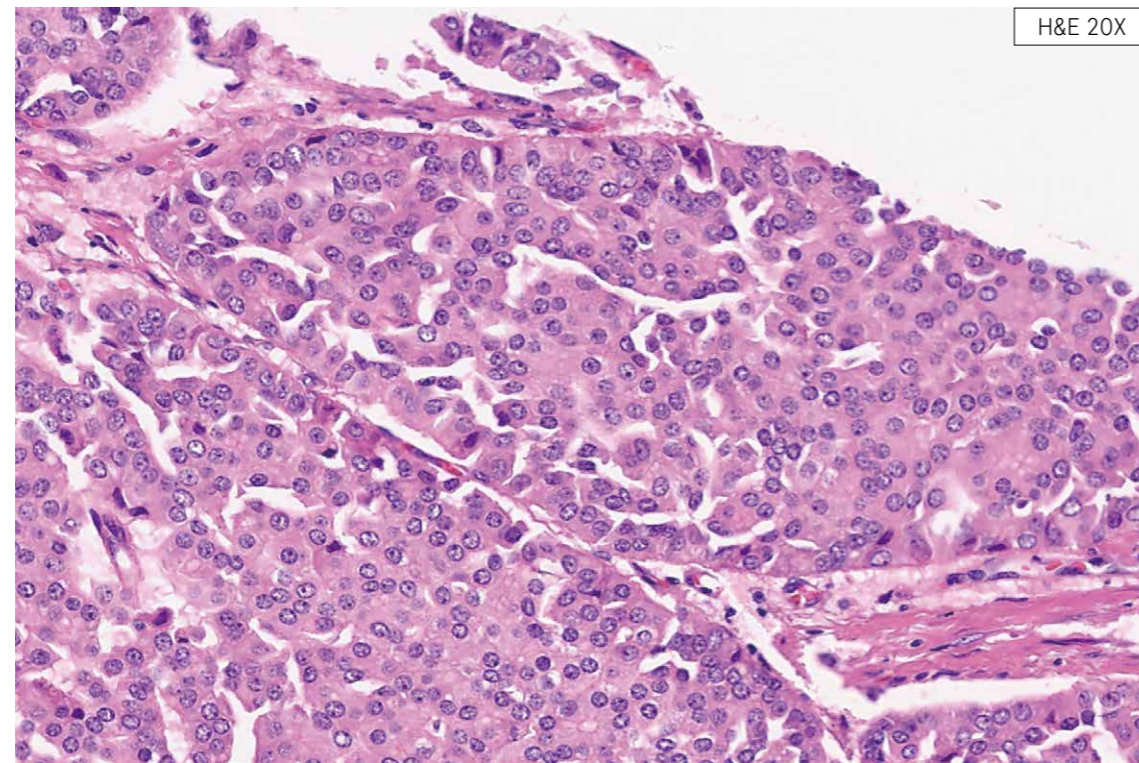
■アーチファクト／判定が難しい症例

症例1：黄色の外科用インク(矢印)をHER2染色と誤解しないよう注意が必要である。これは、倍率をあげる、または、NRCスライドを確認することによって識別できる。この組織の全体的なHER2染色は0%であった (HER2 IHC 0)。



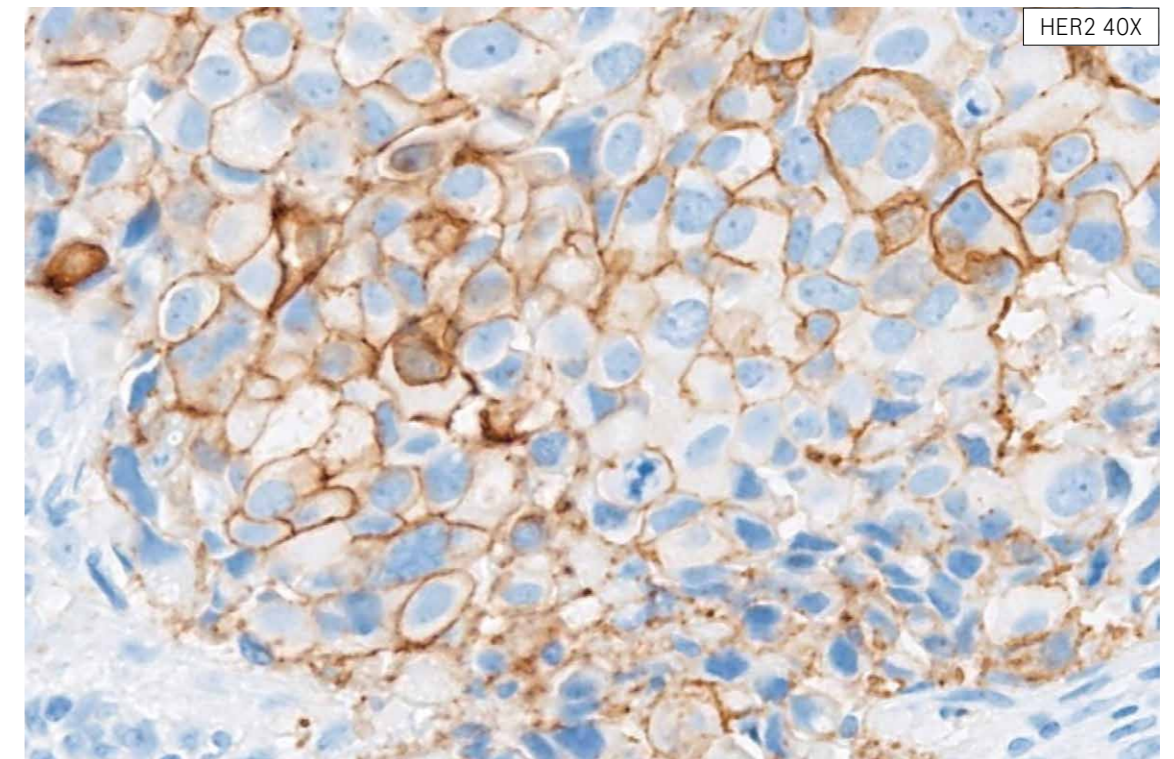
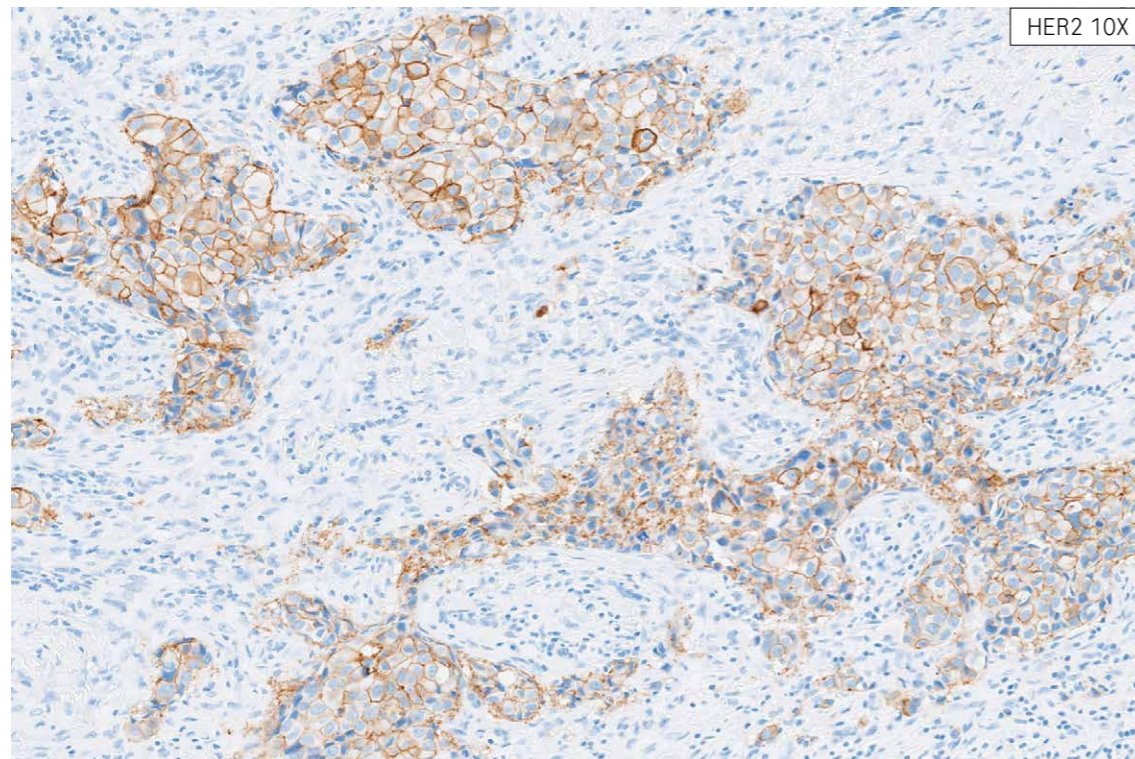
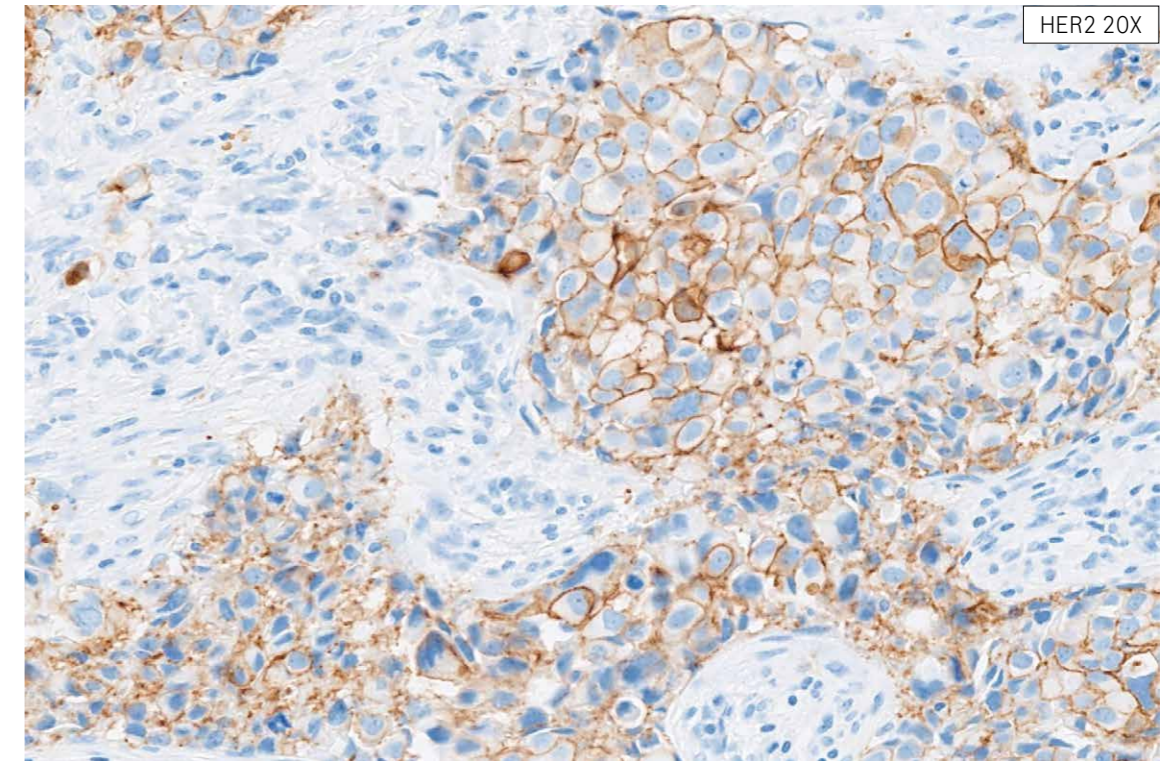
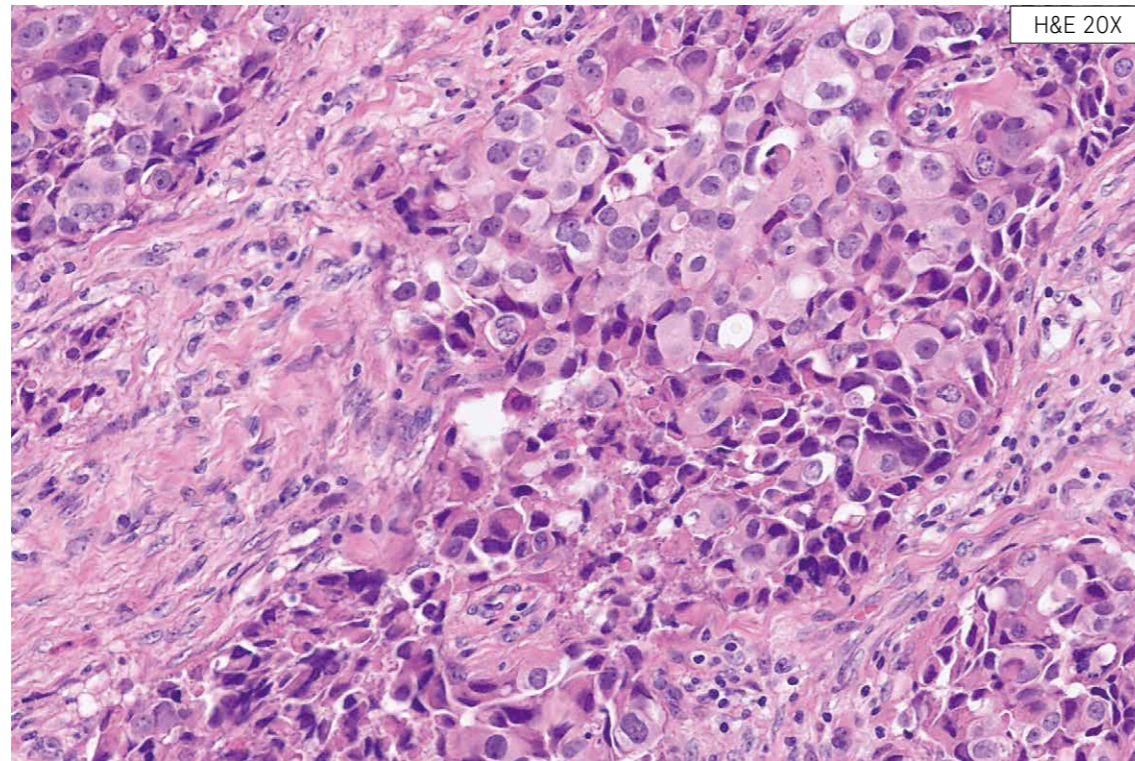
■アーチファクト／判定が難しい症例

症例2：ひとつの組織の縁に沿って多くの染色を認める。組織縁に沿った染色はアーチファクトの可能性があり、再染色を考慮する必要がある（特に、縁の染色にバックグラウンド染色が関わっている場合）。本症例では、この組織の縁に沿った染色は組織全体のHER2 IHCスコア2+に影響を及ぼすことはなかった。



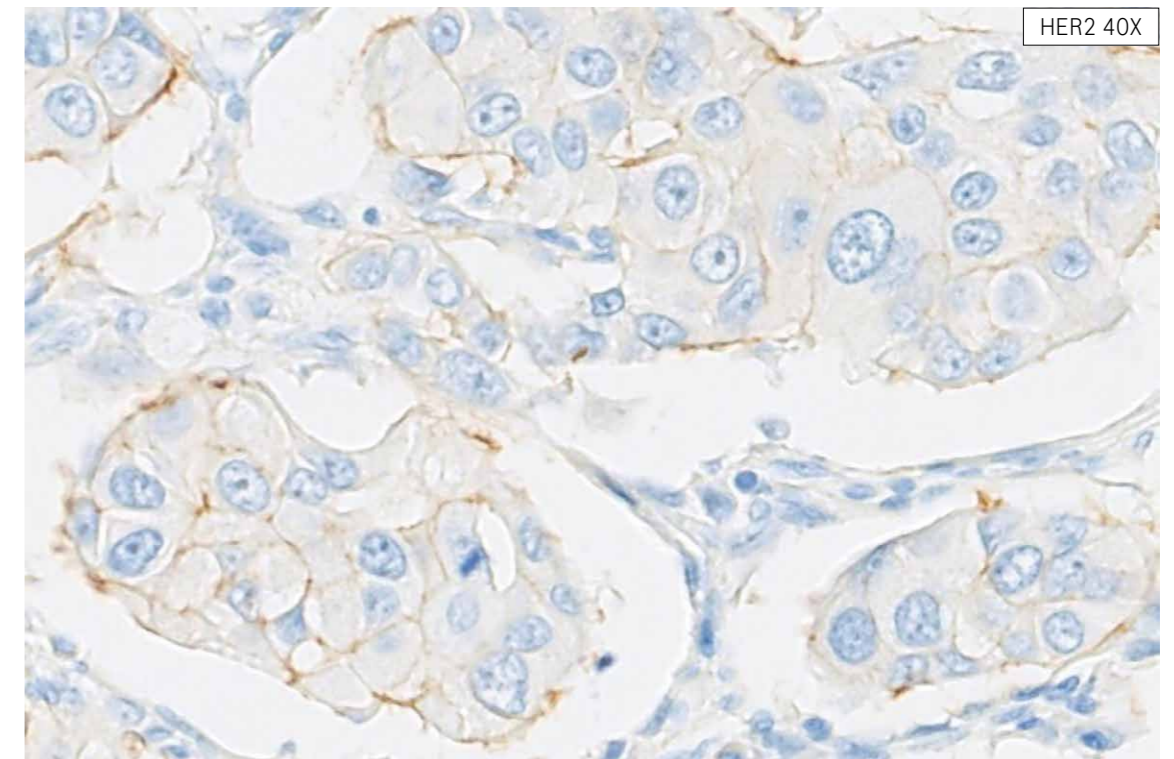
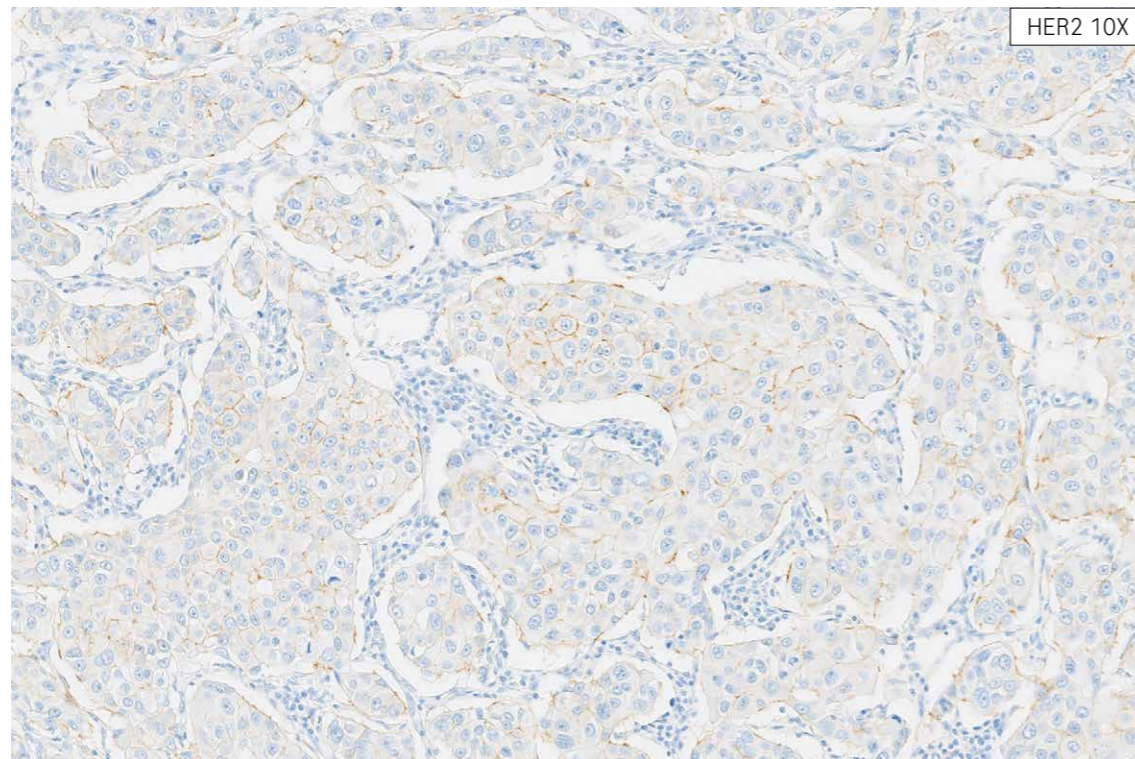
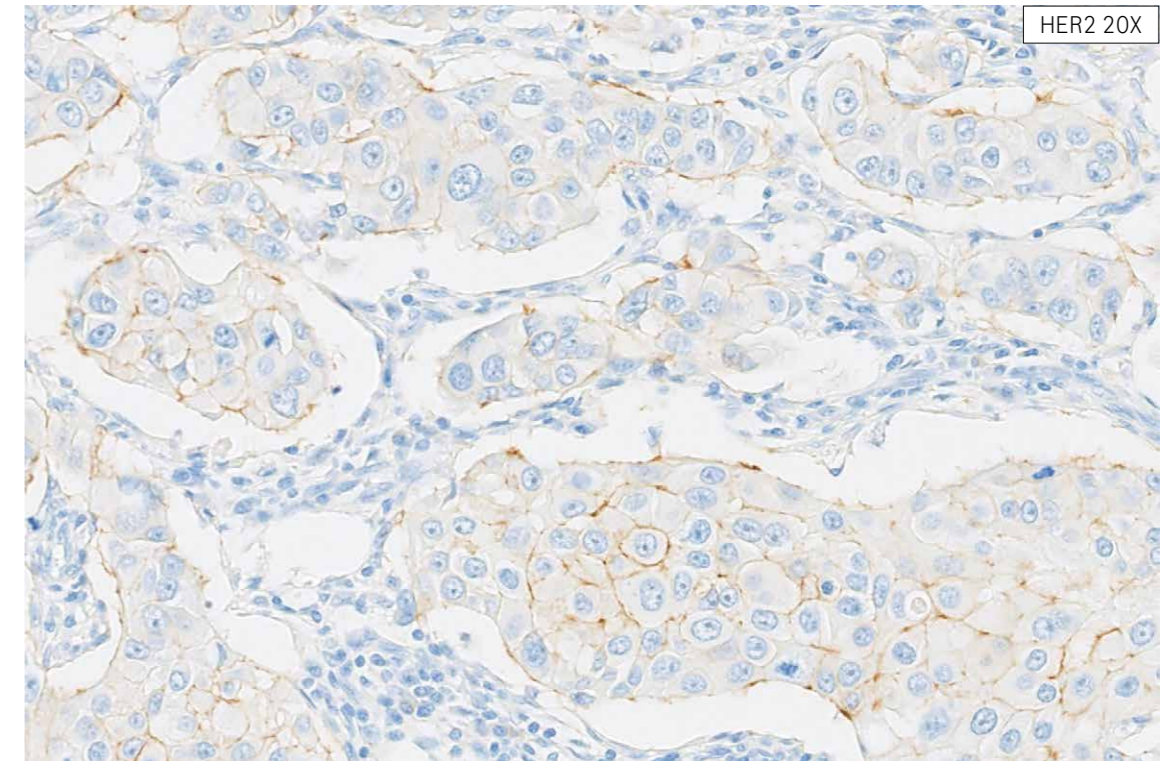
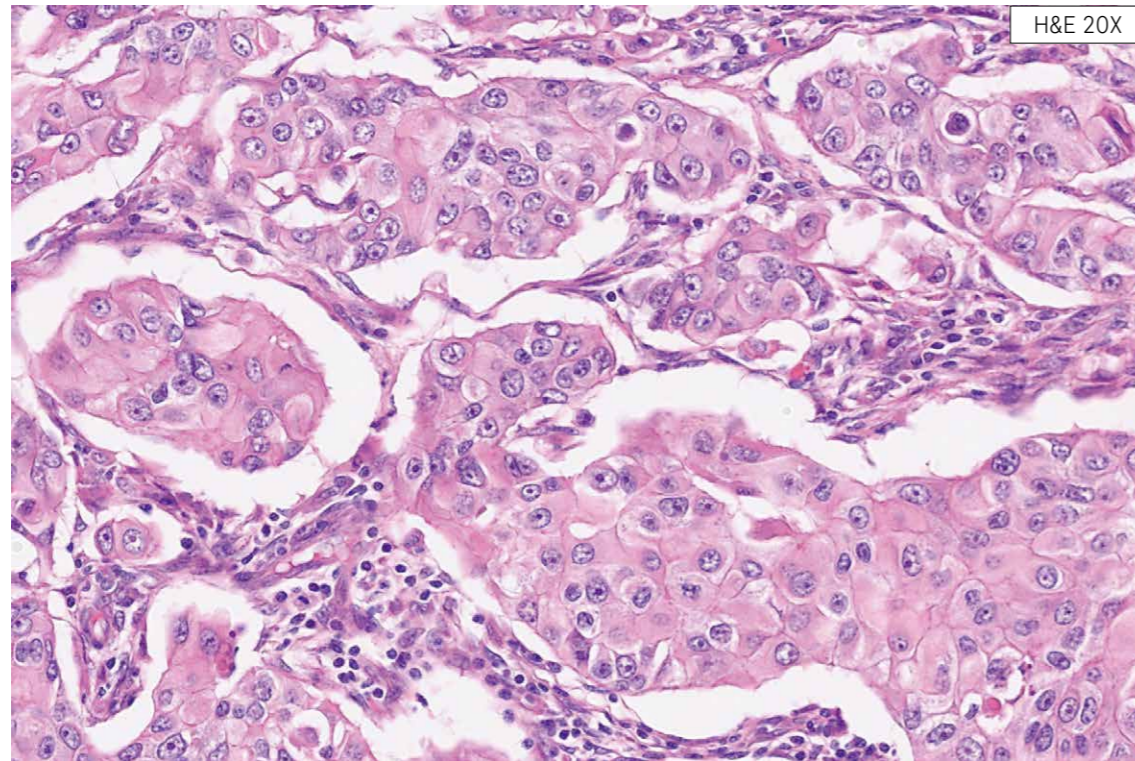
■アーチファクト／判定が難しい症例

症例3：腫瘍細胞の10%を超える細胞に完全な、強い染色を示すが (HER2 IHCスコア3+)、そのほか、腫瘍細胞の膜への染色に関連した細胞質および局所に顆粒状の染色がみられる領域がある。顆粒状の膜染色はHER2スコアリングの対象から除外する。



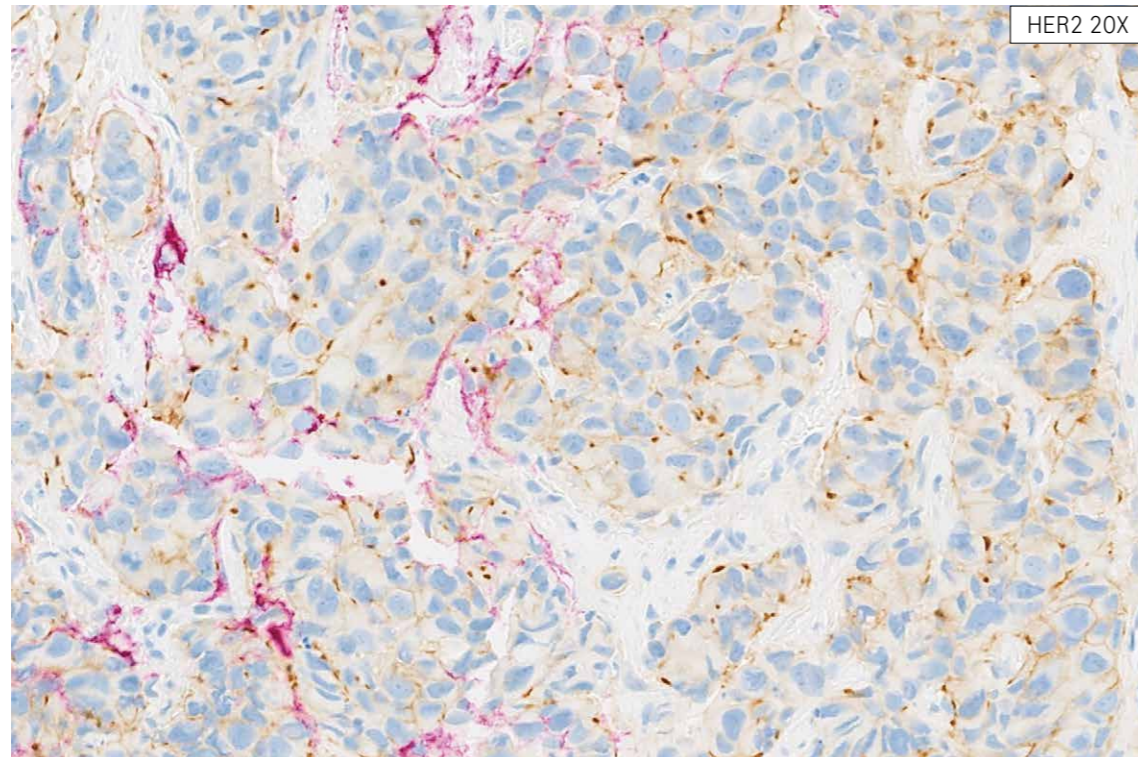
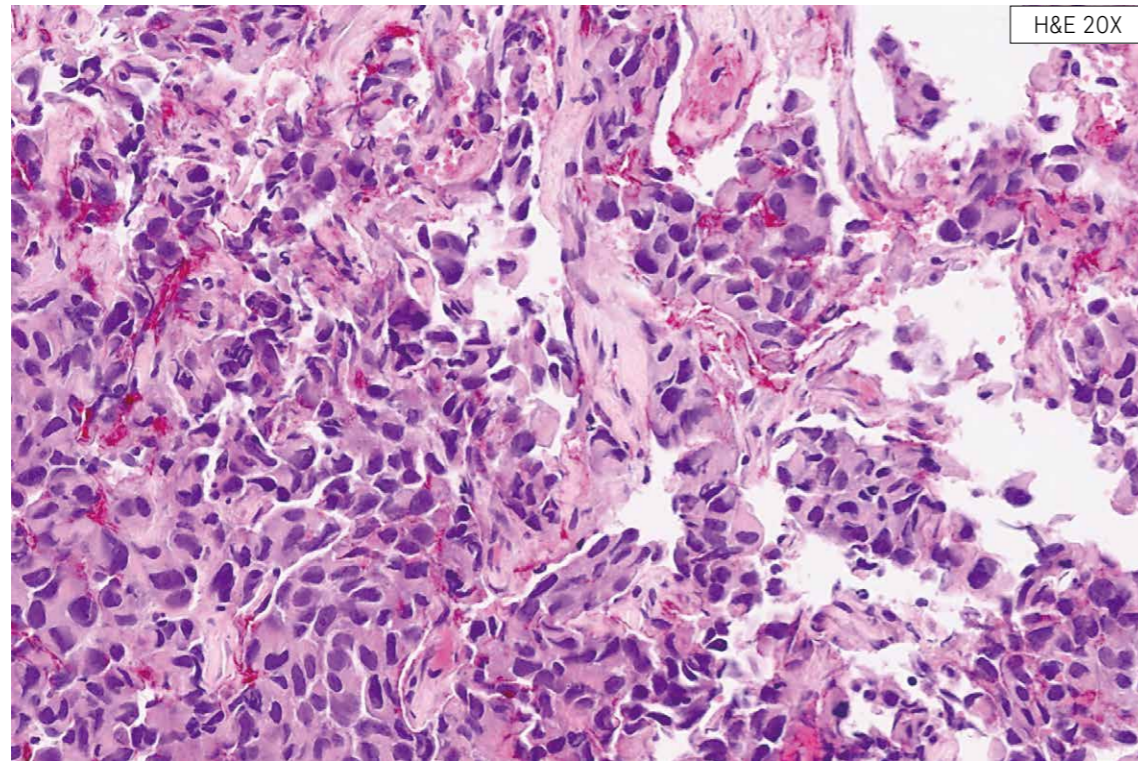
■アーチファクト／判定が難しい症例

症例4：組織縁に染色を呈する裂隙形成 (retraction artifact) が多く認められる。裂隙が形成された組織縁や、遊離した組織／腫瘍縁、空隙 (内腔や偽腔) に腫瘍のHER2染色がみられても、腫瘍細胞の側面に沿った染色が認められないかぎり、HER2スコアリングの対象には含めない。判定が難しい本症例は、腫瘍細胞の全体の25%に完全な弱～中等度の膜染色を認め、全体的なHER2 IHCスコアが2+であった。



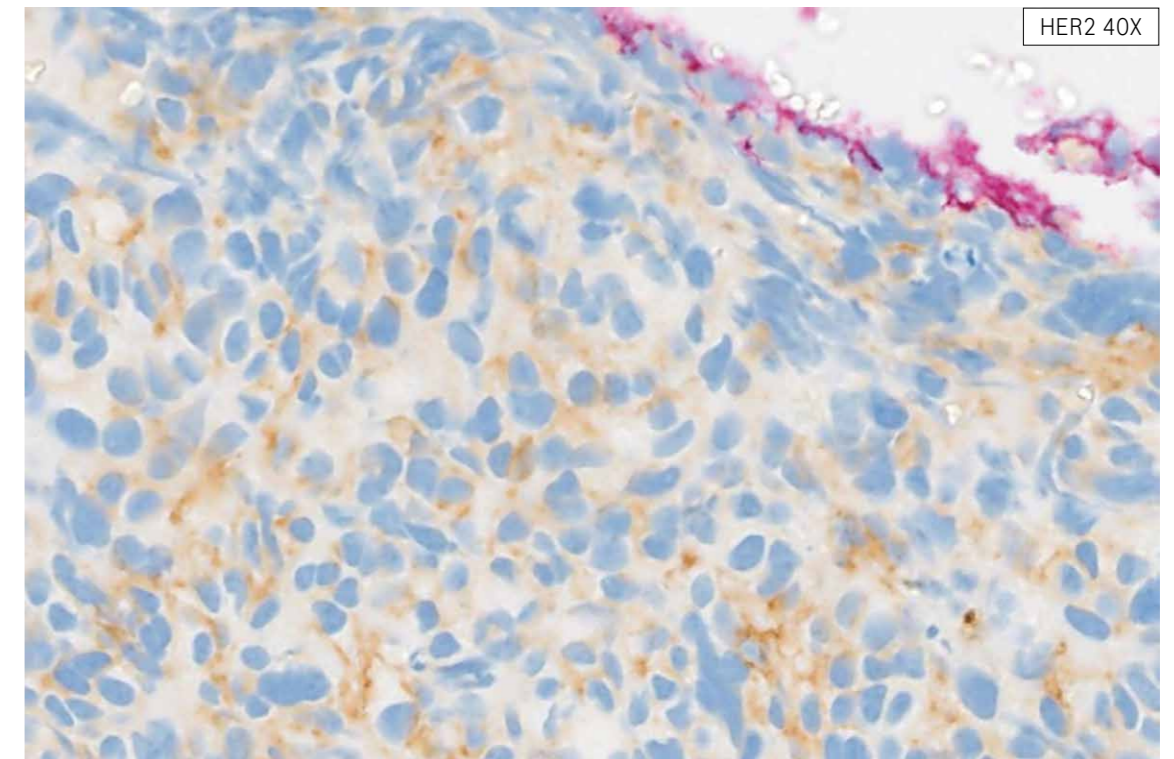
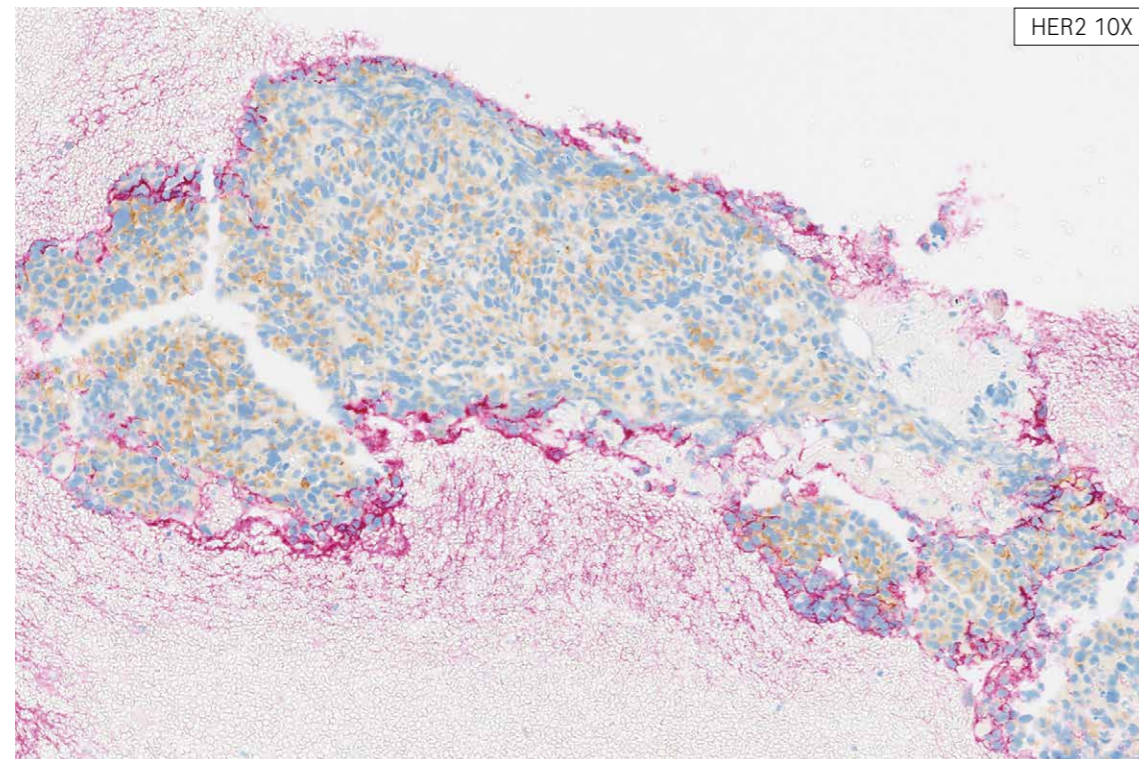
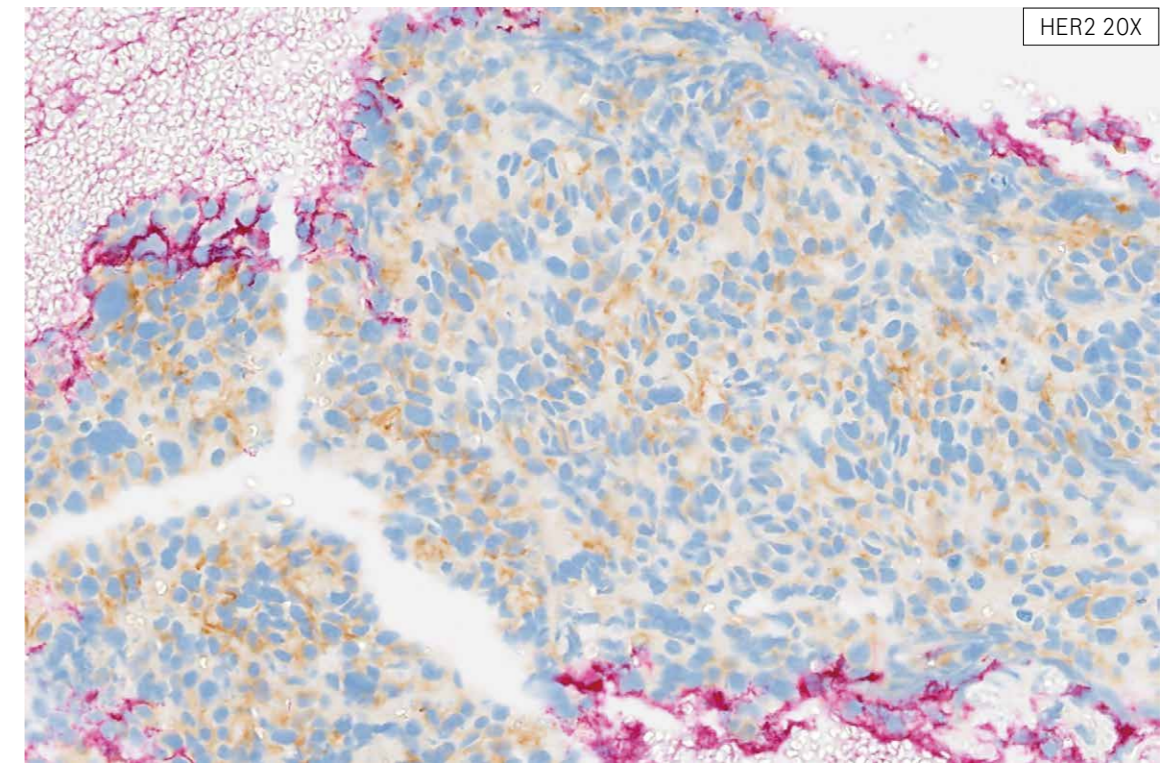
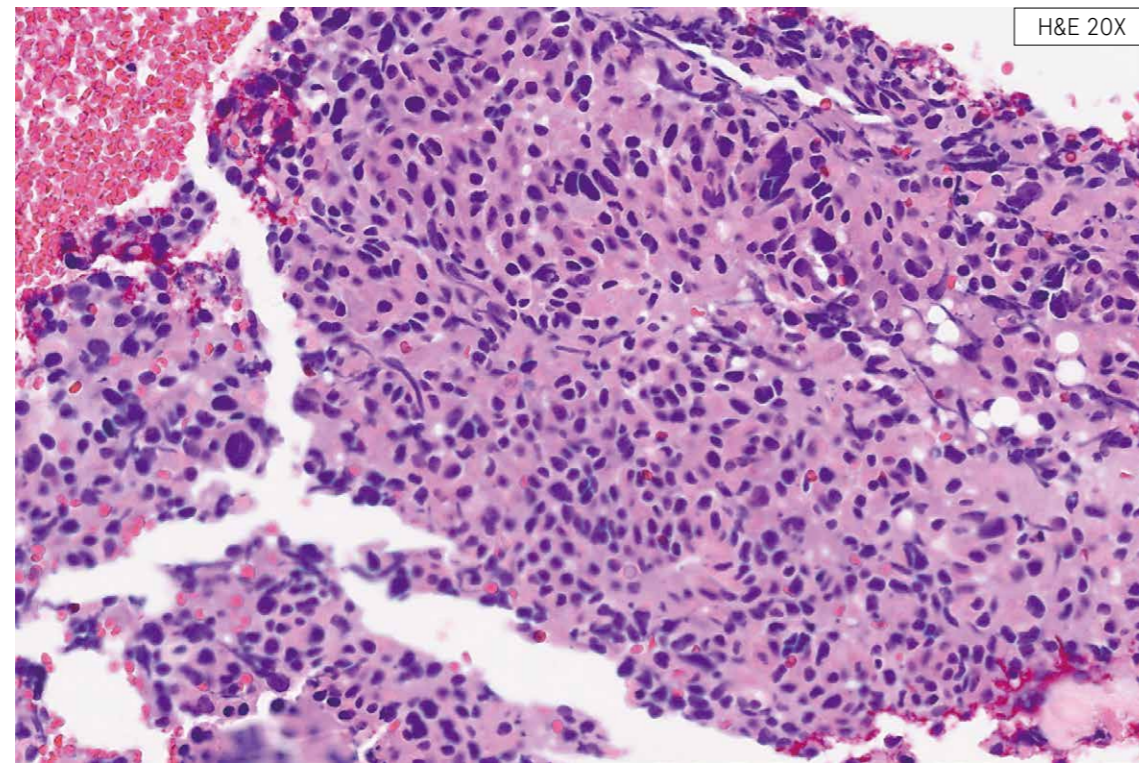
■アーチファクト／判定が難しい症例

症例5：空隙に沿って、さらに、内腔側にも多くのDABシグナルが認められるため、かすかな～弱い膜染色との識別が困難になっている。アポトーシス、形質細胞の細胞質、その他の細胞片に標的外的染色が認められることに注意。この症例は不完全な膜染色も完全な膜染色も示すが、組織全体の40%に膜染色を示すHER2 IHC 2+と判定された。



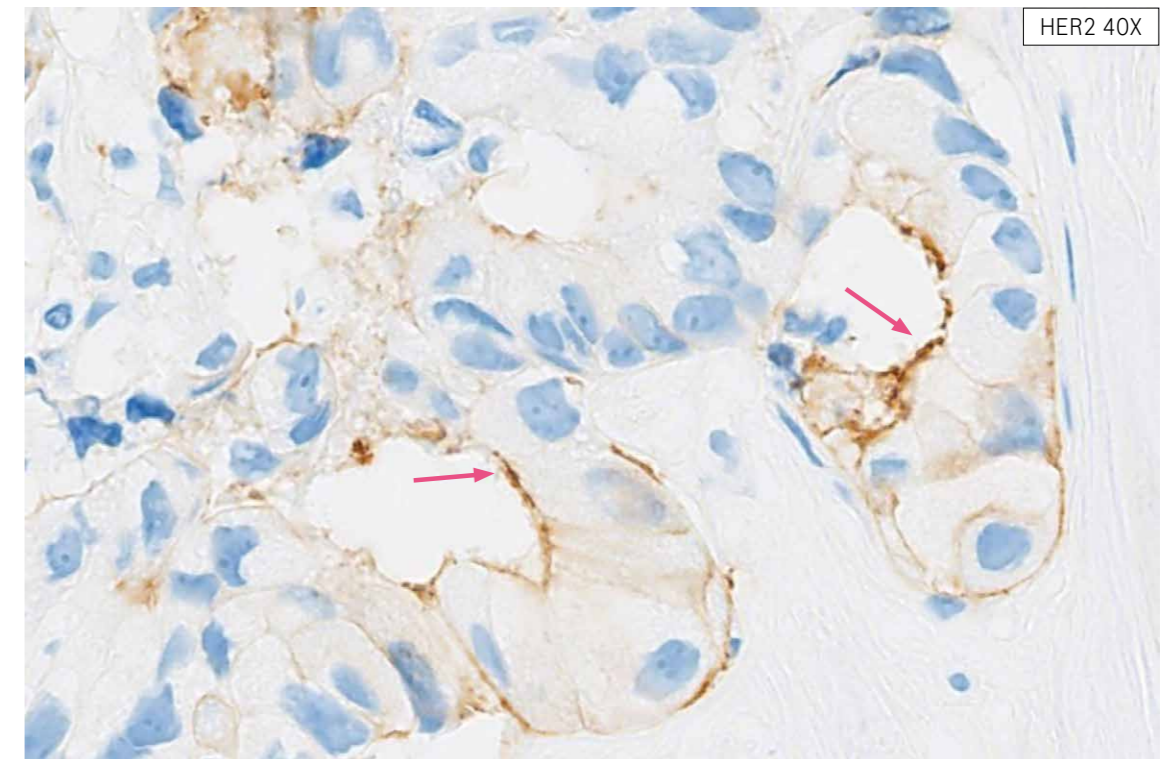
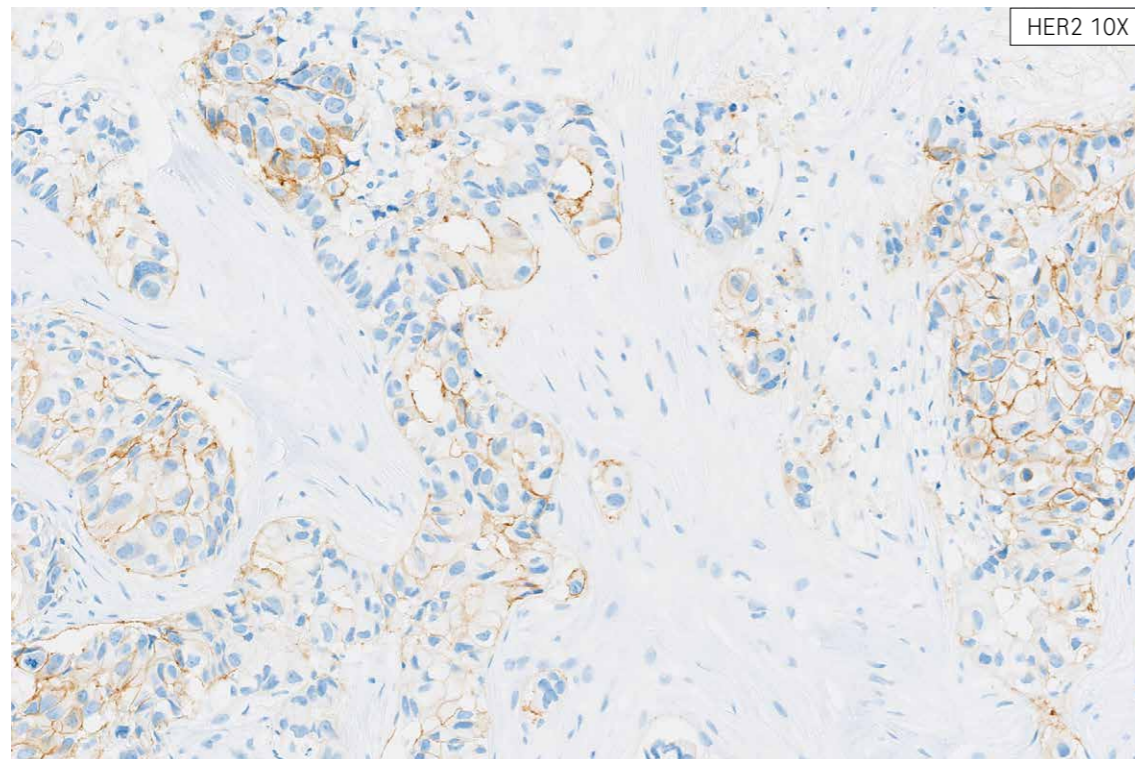
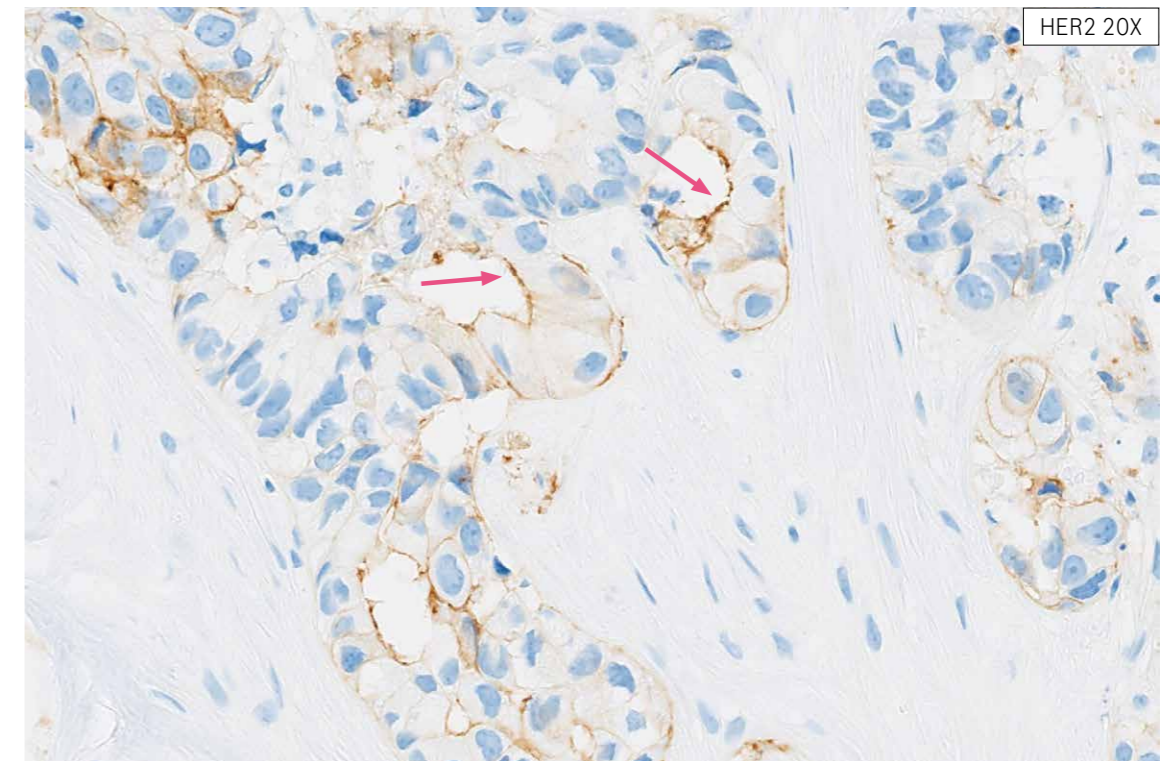
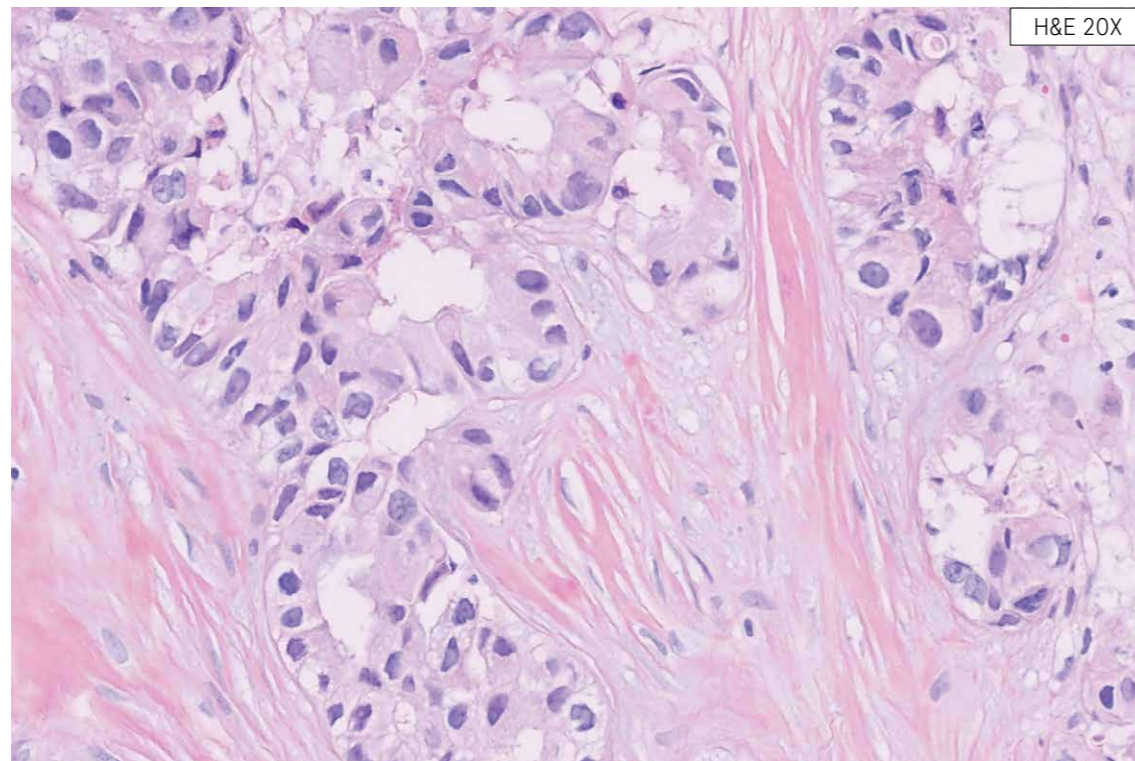
■アーチファクト／判定が難しい症例

症例6： 本生検の外面は赤色に塗られている。局所的に裂隙形成 (retraction artifact) を認める狭い領域が複数ある。裂隙形成 (retraction artifact) のある領域は腫瘍細胞の一部には含まない。裂隙形成 (retraction artifact) のある腫瘍細胞に認められた膜染色はHER2スコアリングの対象から除外する。このような腫瘍細胞の膜は損傷しており、非特異的に染色される可能性があるためである。この組織は全体の40%に部分的な染色を認めた (HER2 IHCスコア1+)。



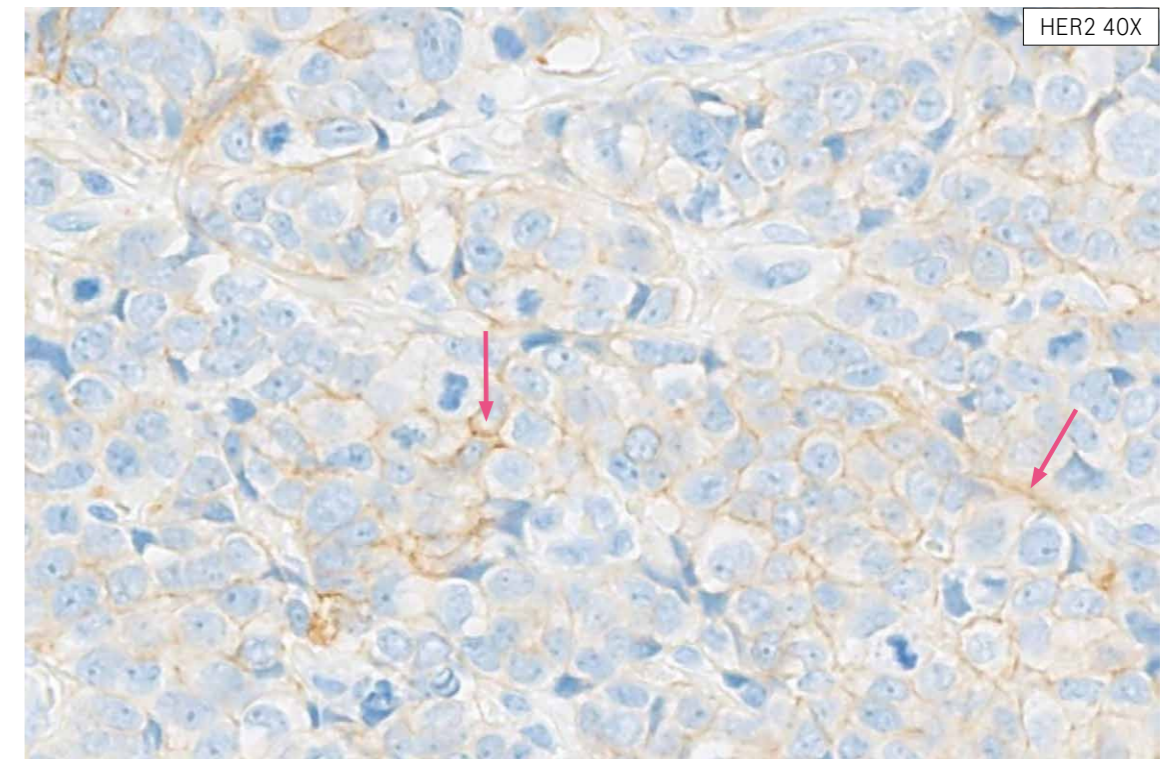
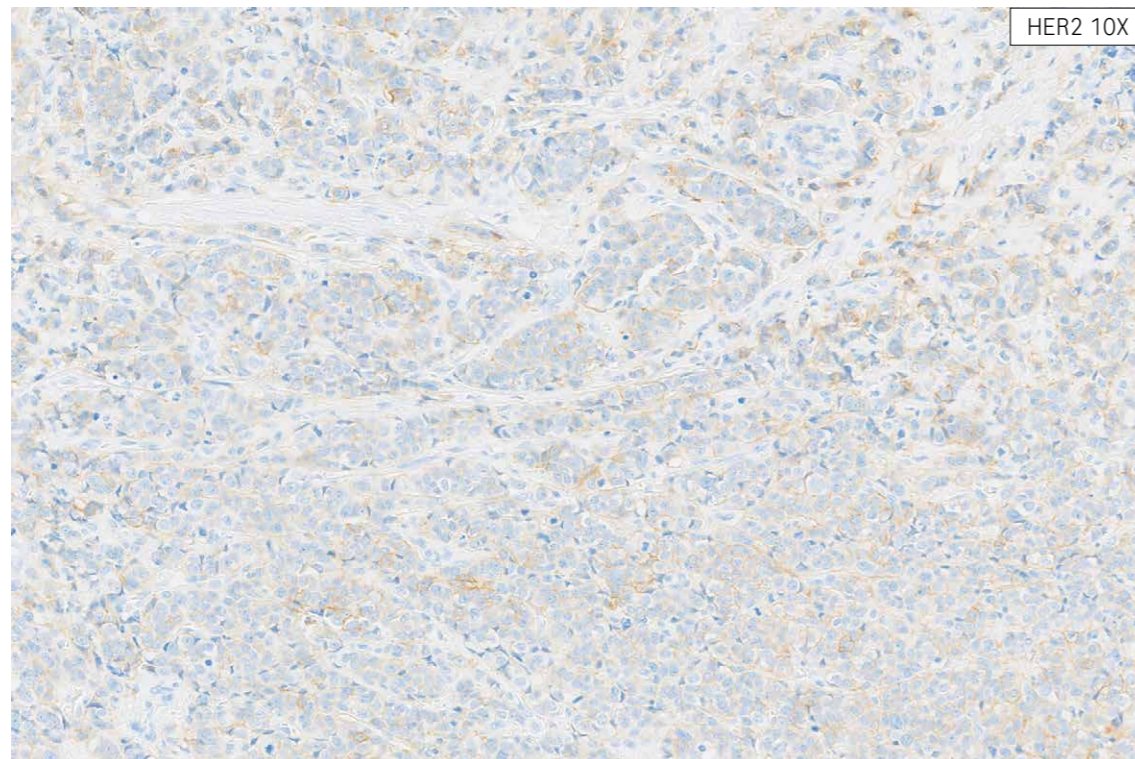
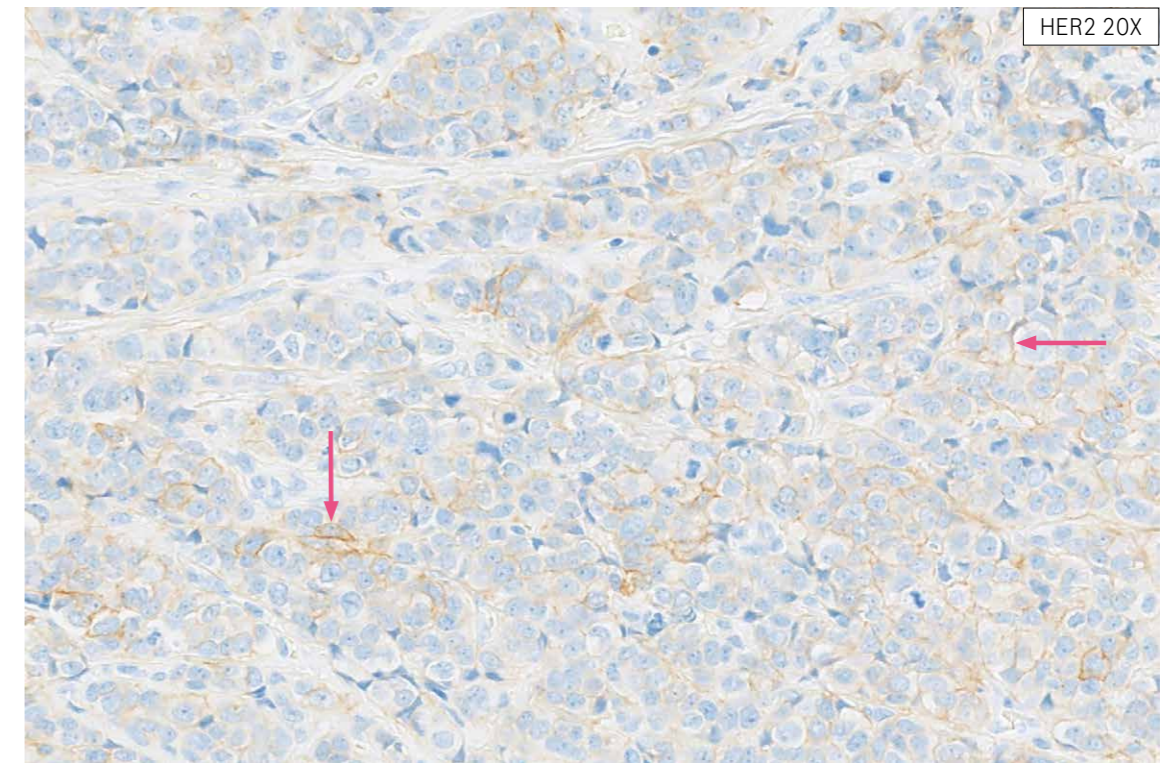
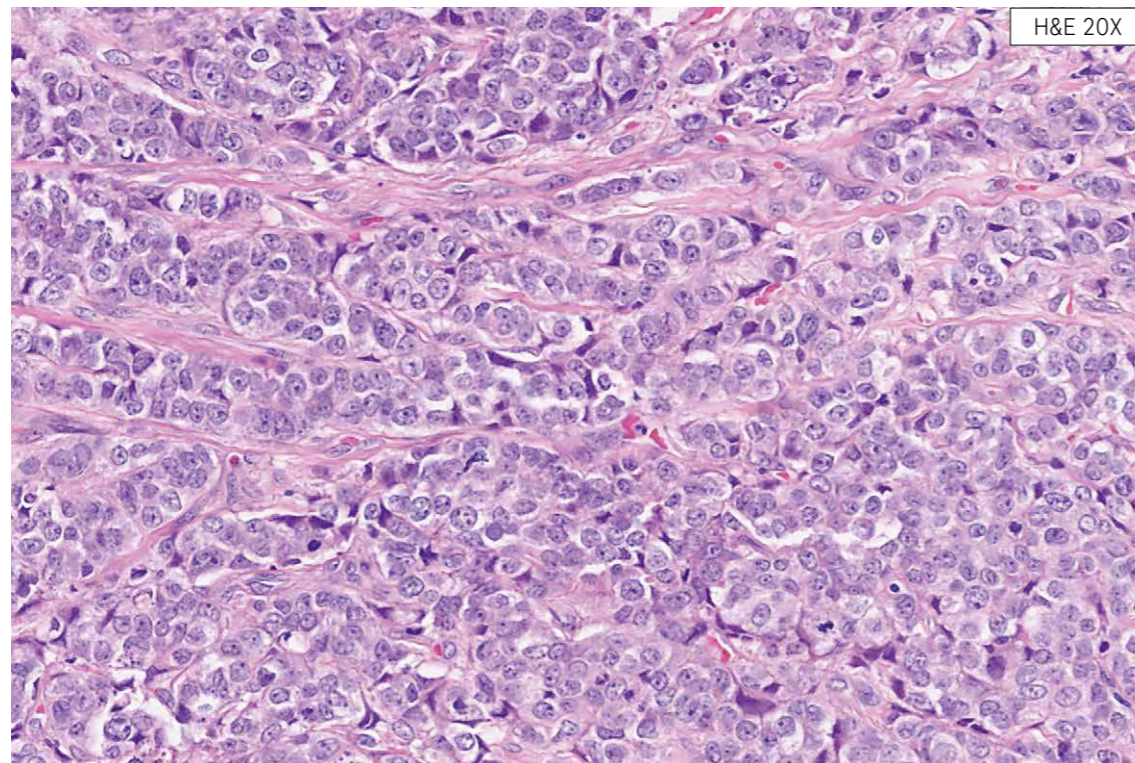
■アーチファクト／判定が難しい症例

症例7: ヘテロジェナイティが認められる。裂隙形成 (retraction artifact) が認められる。さらに、空隙に沿ってHER2染色が認められる (矢印)。空隙 (内腔や偽腔) に沿った染色は、側面の腫瘍細胞の膜に沿ったHER2染色が認められないかぎり、HER2スコアリングの対象には含めない。この組織は全体の40%に染色を呈するためHER2 IHCスコア1+と判定された。



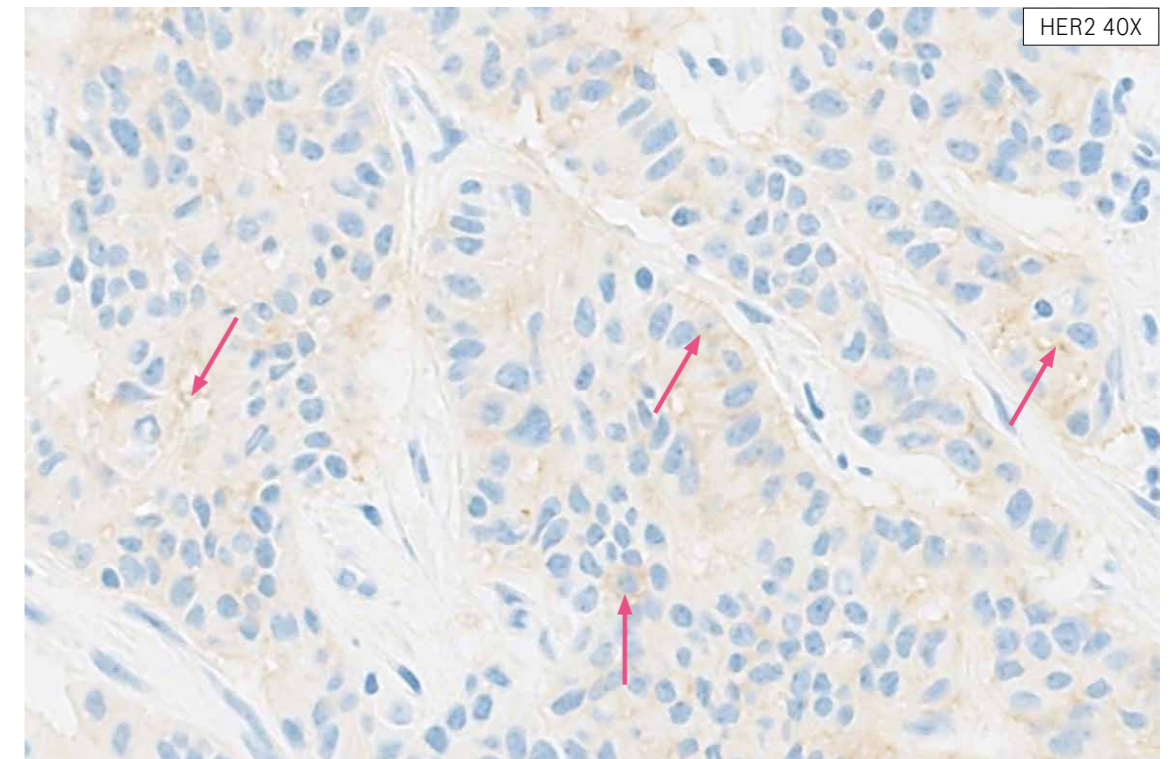
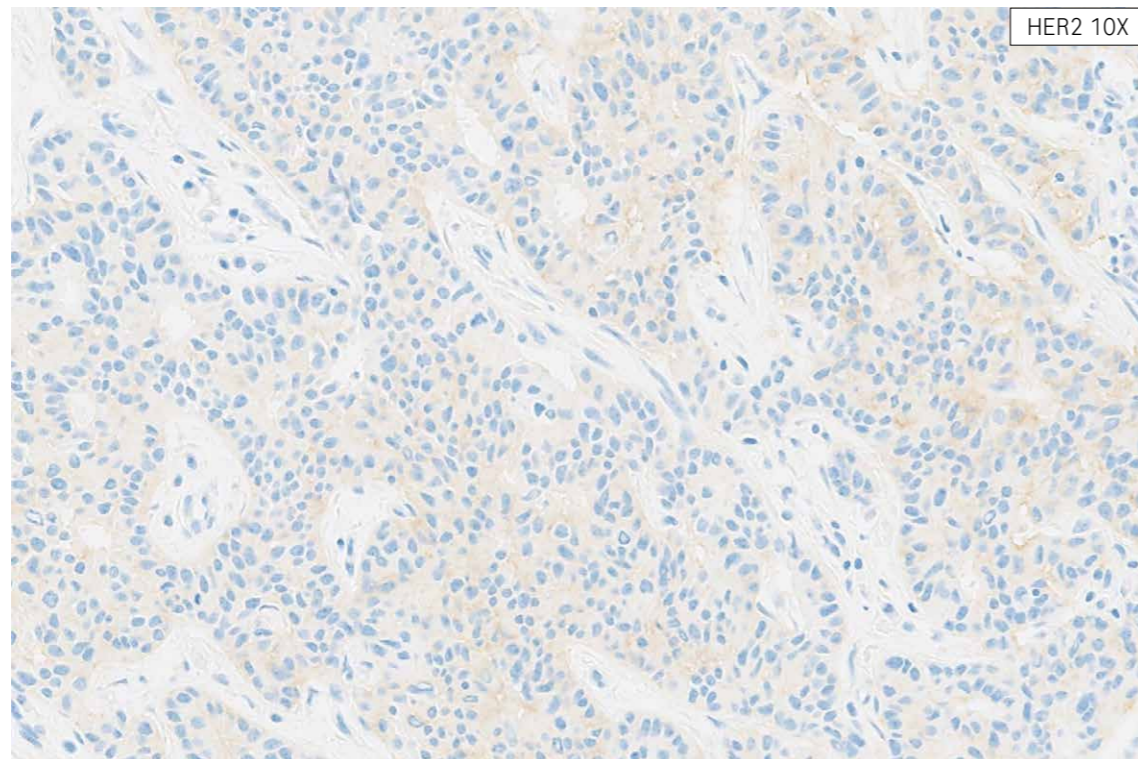
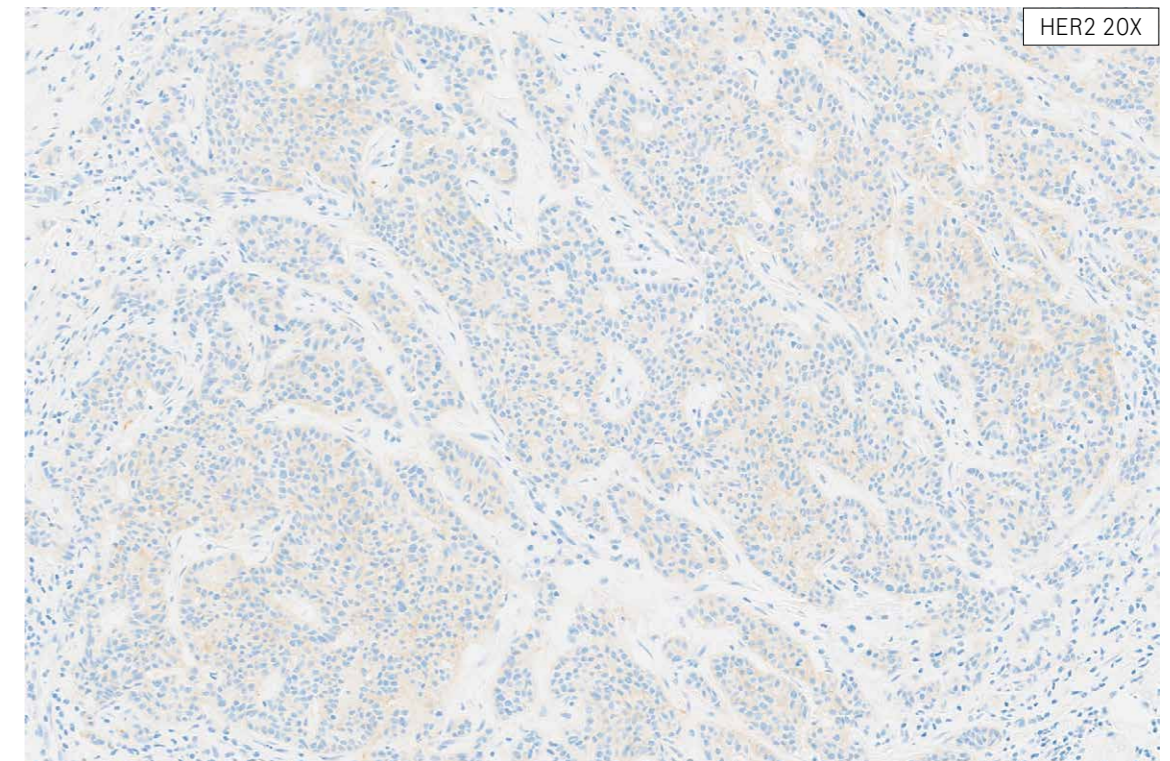
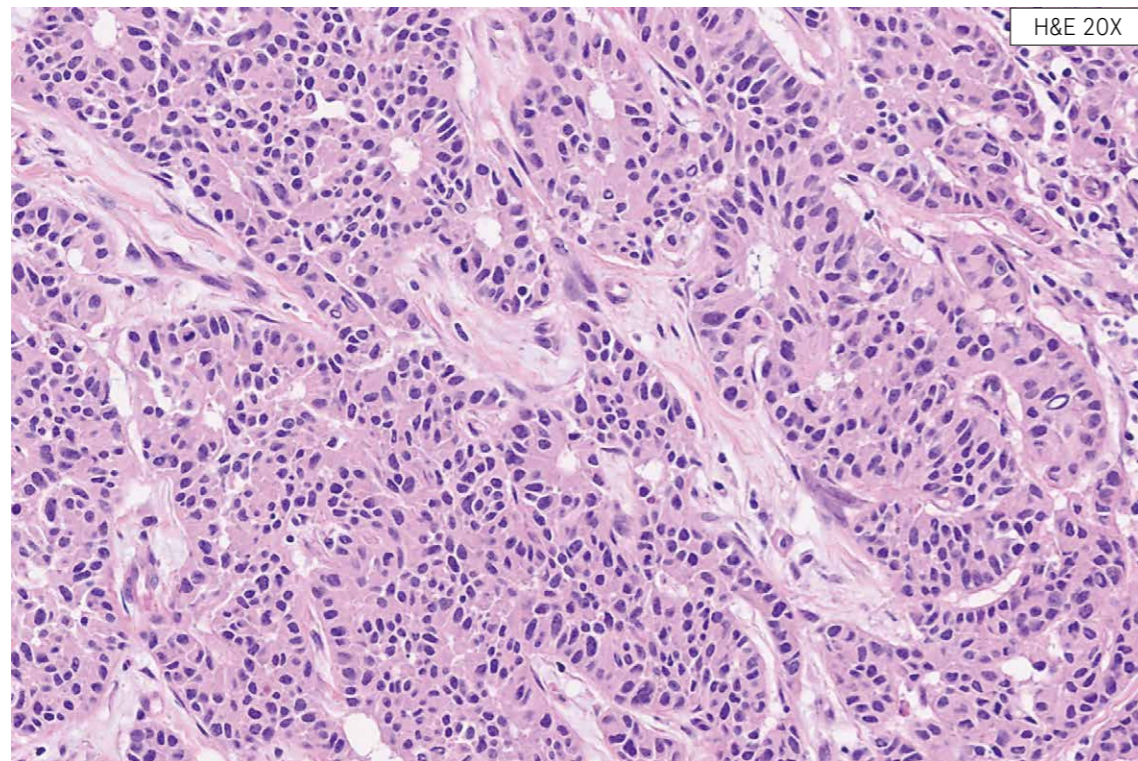
■アーチファクト／判定が難しい症例

症例8: 多くの細胞の細胞質に染色を呈するため、かすかな～弱い膜染色の識別が困難になっている。倍率をあげると、かすかな～弱い膜染色が見えるようになる(矢印)。2+や3+と判定できない場合は、部分的に認めるかすかな～弱い膜染色を残らず評価するため、時間をかけて腫瘍全体を慎重に確認する必要がある。この症例は30%に不完全な膜染色を呈するためHER2 IHC 1+と判定された。



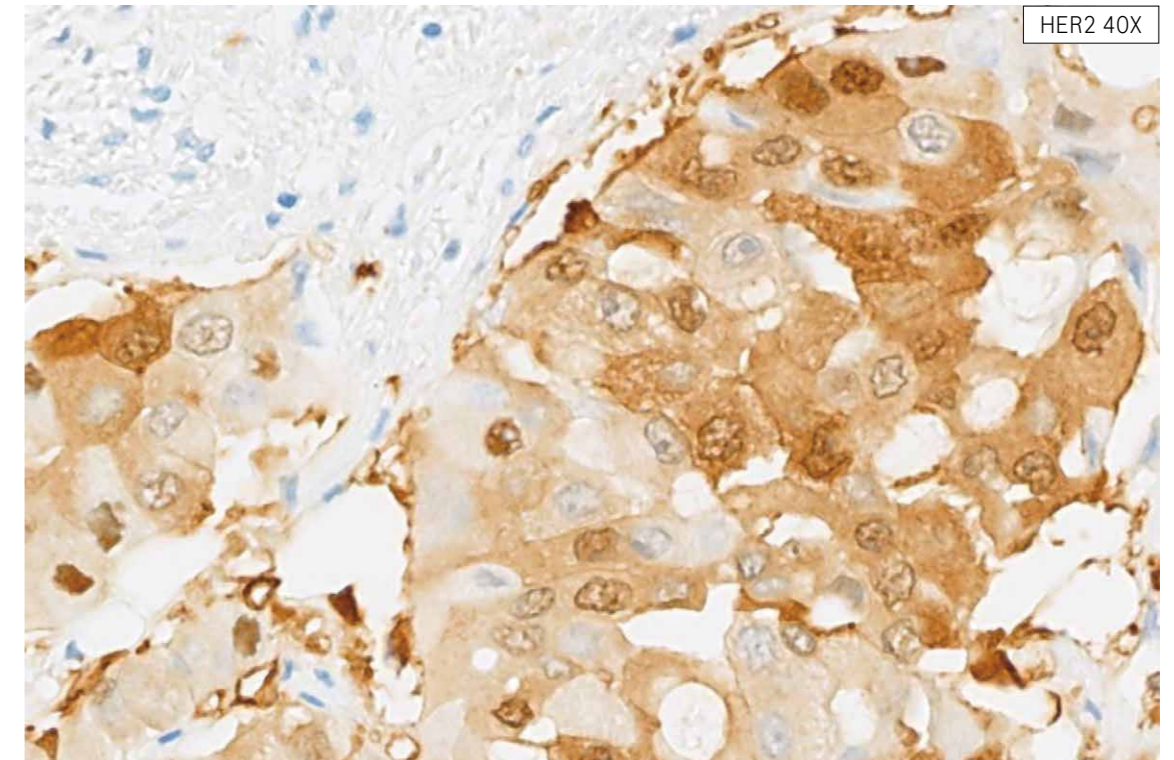
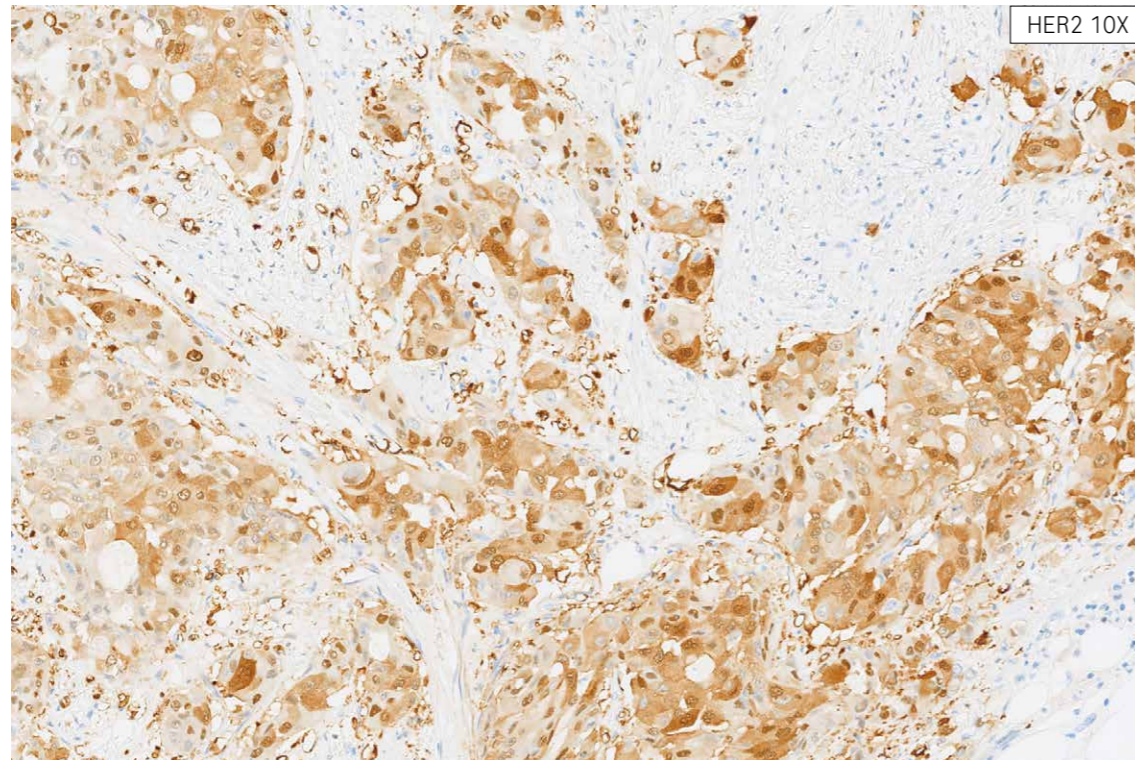
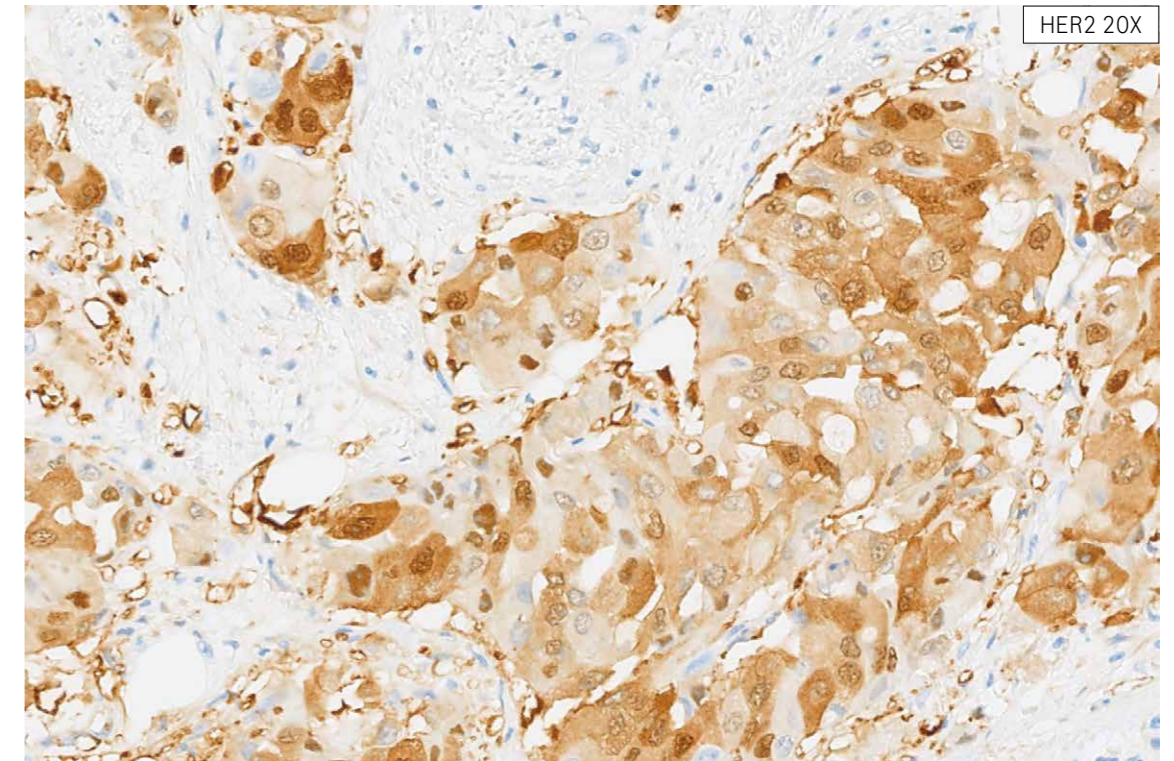
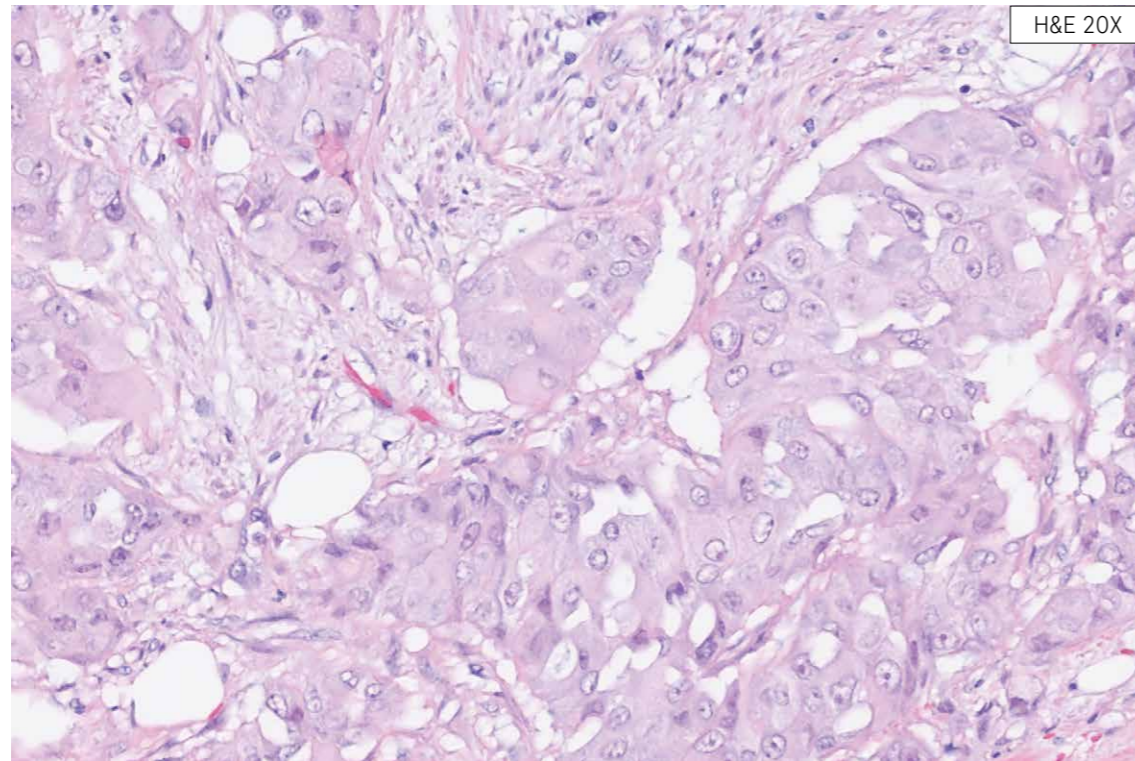
■アーチファクト／判定が難しい症例

症例9：大量の細胞質染色を呈し、判定がきわめて難しい。低～中倍率では明確なHER2膜染色を識別することができない。このような症例では、細胞質への染まりと不完全な膜染色を識別するため、対物40倍で組織全体を慎重に確認することが必要である。(矢印)この症例は全体の8%に染色を示しHER2 IHCスコア0と判定された。



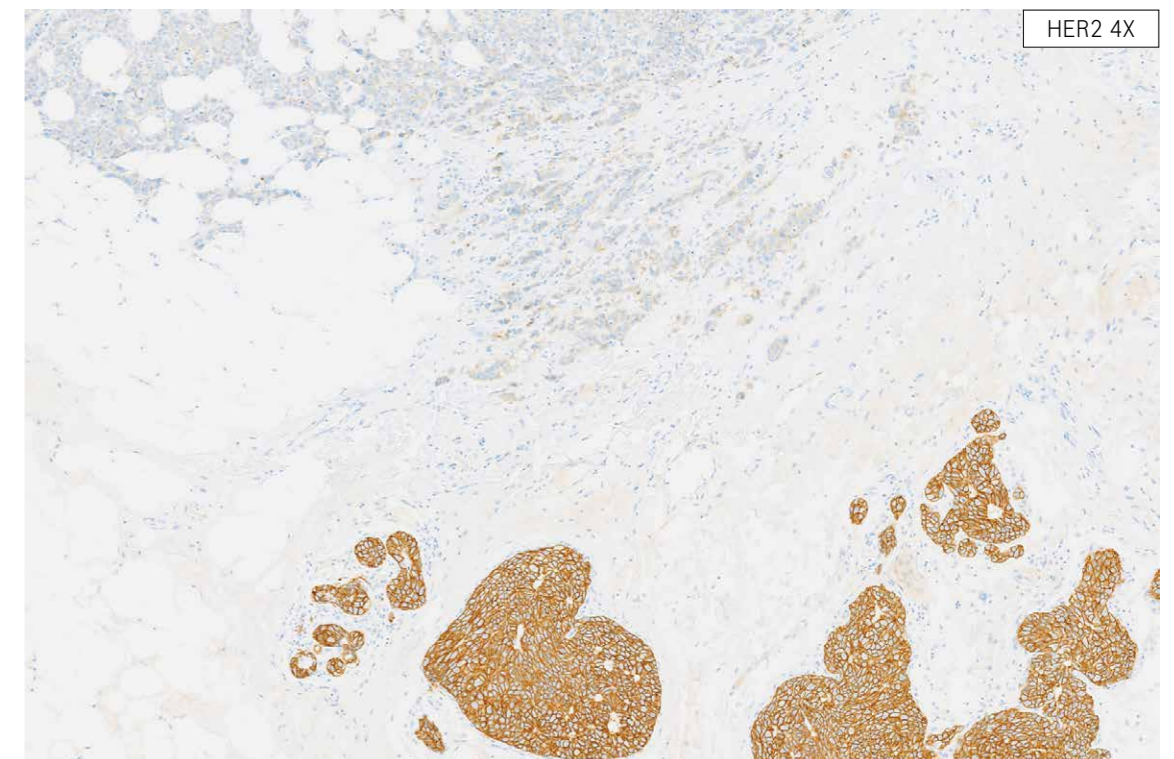
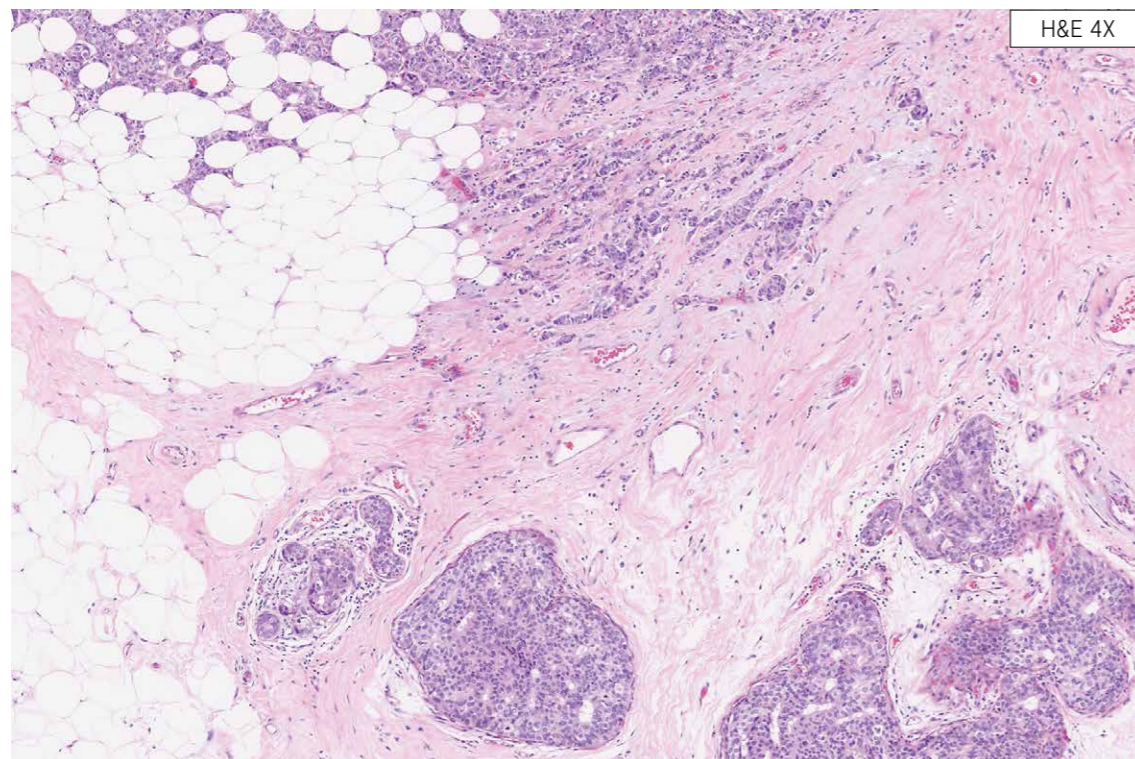
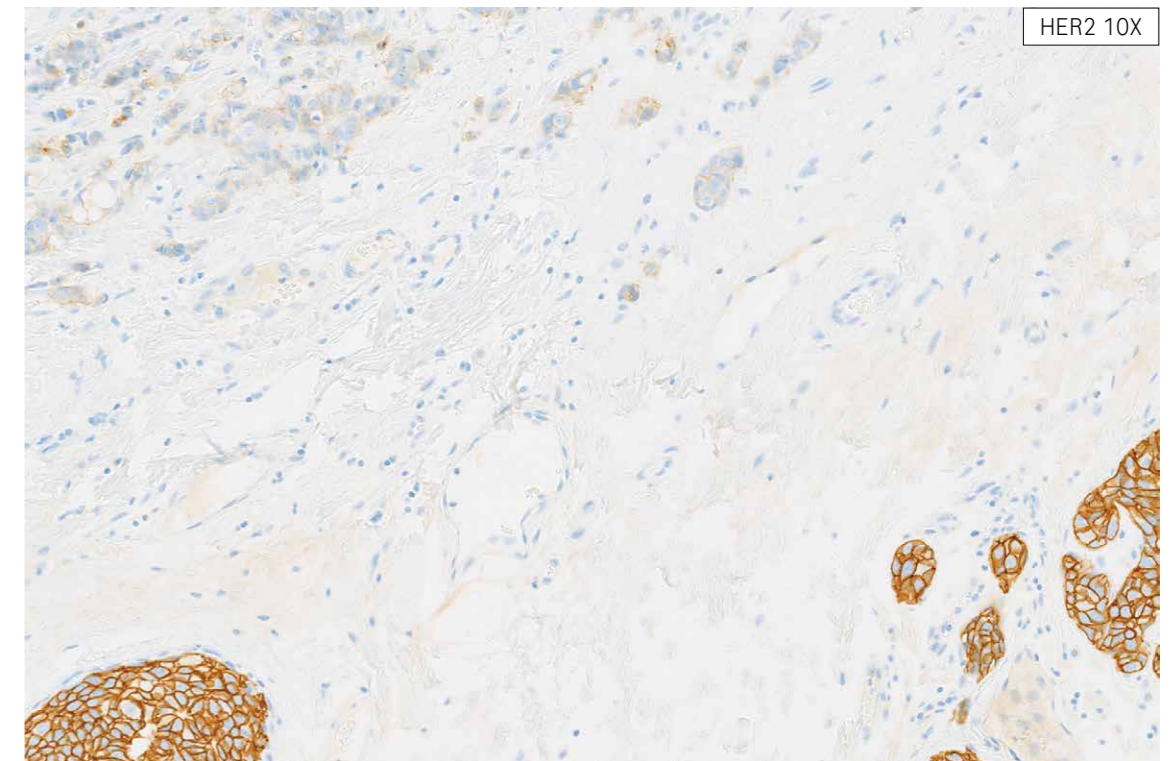
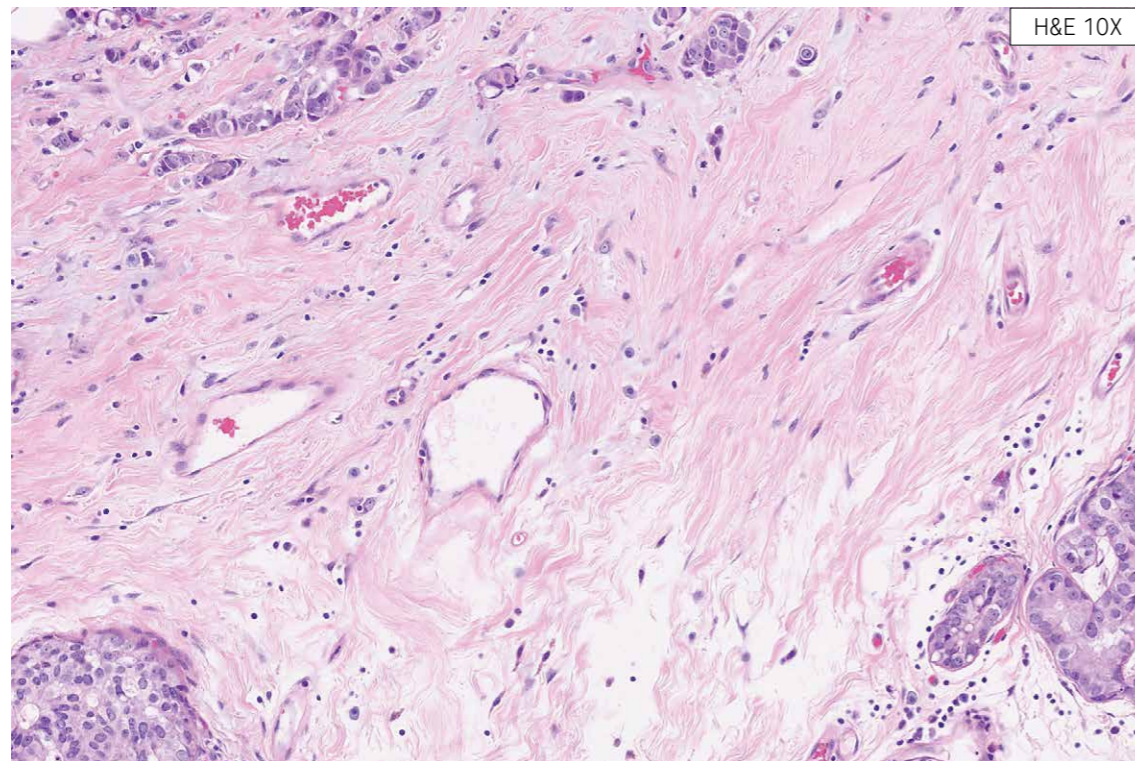
■アーチファクト／判定が難しい症例

症例10：細胞質および核にあきらかなHER2染色を呈した腫瘍が認められる。細胞質または核(または両者)の染色が小さな腫瘍巣や組織にしか認められない場合、残りの腫瘍領域にてスコアリングを実施してよい。しかし、腫瘍の大部分の細胞質または核(または両者)に染色を呈する場合は、スコアリングを実施してはならない。



■アーチファクト／判定が難しい症例

症例11：浸潤部のほかにDCIS (非浸潤性乳管癌) が認められる。この症例ではDCIS成分に完全な強い膜染色を認め、浸潤部では部分的な弱～弱い膜染色を認める。DCIS成分は除外し、HER2スコアリングの対象には含めない。DCISは浸潤部とほぼ同じHER2の染色性を認めることもあれば、(この症例のように) 浸潤部とはまったく異なる染色性を呈することもある。



1. Akiyama T, Sudo C, Ogawara H, et al. The product of the human c-erbB-2 gene: a 185-kilodalton glycoprotein with tyrosine kinase activity. *Science*. 1986;232(4758):1644-1646.
2. Press MF, Cordon-Cardo C, Slamon M. Expression of the HER2/neu proto-oncogene in normal human adult and fetal tissues. *Oncogene* 5; 953-962, 1990.
3. Taylor SL, Platt-Higgins A, Rudland PS, et al. Cytoplasmic staining of c-erbB-2 is not associated with the presence of detectable c-erbB-2 mRNA in breast cancer specimens. *Int J Cancer* 76: 459-463, 1998.