

第21回
日本乳癌学会九州地方会
教育セミナー

診断編

テーマ：バイオマーカー

バイオマーカーとは

- 診断や治療の指針となるような遺伝子、タンパク質、その他の物質
- 乳癌には様々なタイプがあり、バイオマーカーを検索することが最適な治療法選択には欠かせない。

内容

1. ホルモン受容体
2. HER2
3. Ki 67
4. PD-L1
5. *BRCA1/2* 遺伝子検査
6. がん遺伝子パネル検査

ホルモン受容体

(ER: Estrogen receptor, PgR: Progesterone receptor)

検索の意義：内分泌療法の適応があるか否かを知る。

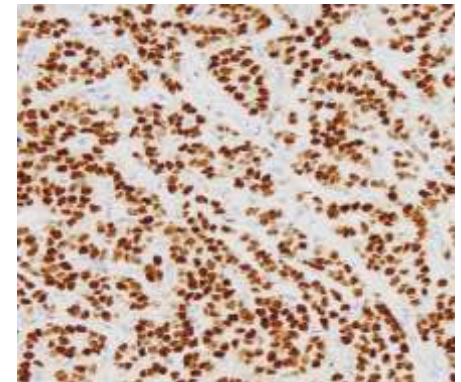
- ERは内分泌療法効果予測因子としての有用性は明らか。
- PgRはERを介し誘導されるため、ERの機能の目安となり、ER陽性乳癌の予後予測因子として有用。
- 再発・転移組織と原発巣組織で発現状況が一致しないことがあるため、可能であれば、再検索が望ましい。

ホルモン受容体

(ER: Estrogen receptor, PgR: Progesterone receptor)

検索方法 免疫組織化学法 (IHC法)

- 検体の取り扱い方法が結果を左右する。
- 体外診断用医薬品として市販されている一次抗体を使用し、プロトコールに従う。
- **核が染色**されたものを陽性細胞とする。
- **浸潤・非浸潤**ともに評価する。



ホルモン受容体

(ER: Estrogen receptor, PgR: Progesterone receptor)

判定方法 陽性細胞の占有率で判定する方法と占有率と染色強度を組み合わせる方法がある。

J-score

判定	陽性細胞数
Score 0	陰性
Score 1	陽性細胞占有率 1%未満
Score 2	陽性細胞占有率 1%以上 10%未満
Score 3a	陽性細胞占有率 10%以上 50%未満
Score 3b	陽性細胞占有率 50%以上

Allred-score

陽性細胞の割合	proportion score (PS)	陽性細胞の染色強度	intensity score (IS)
0	0	陰性	0
0→1/100	1	弱陽性	1
1/100→1/10	2	中等度陽性	2
1/10→1/3	3	強陽性	3
1/3→2/3	4		
2/3→1	5		
Total score(TS)=PS+IS			

*ASCO/CAPガイドラインでは%表記推奨

ホルモン受容体

(ER: Estrogen receptor, PgR: Progesterone receptor)

カットオフ値

- 1%以上 陽性
- 1%未満または0% 陰性
- ER 1~10% 低発現

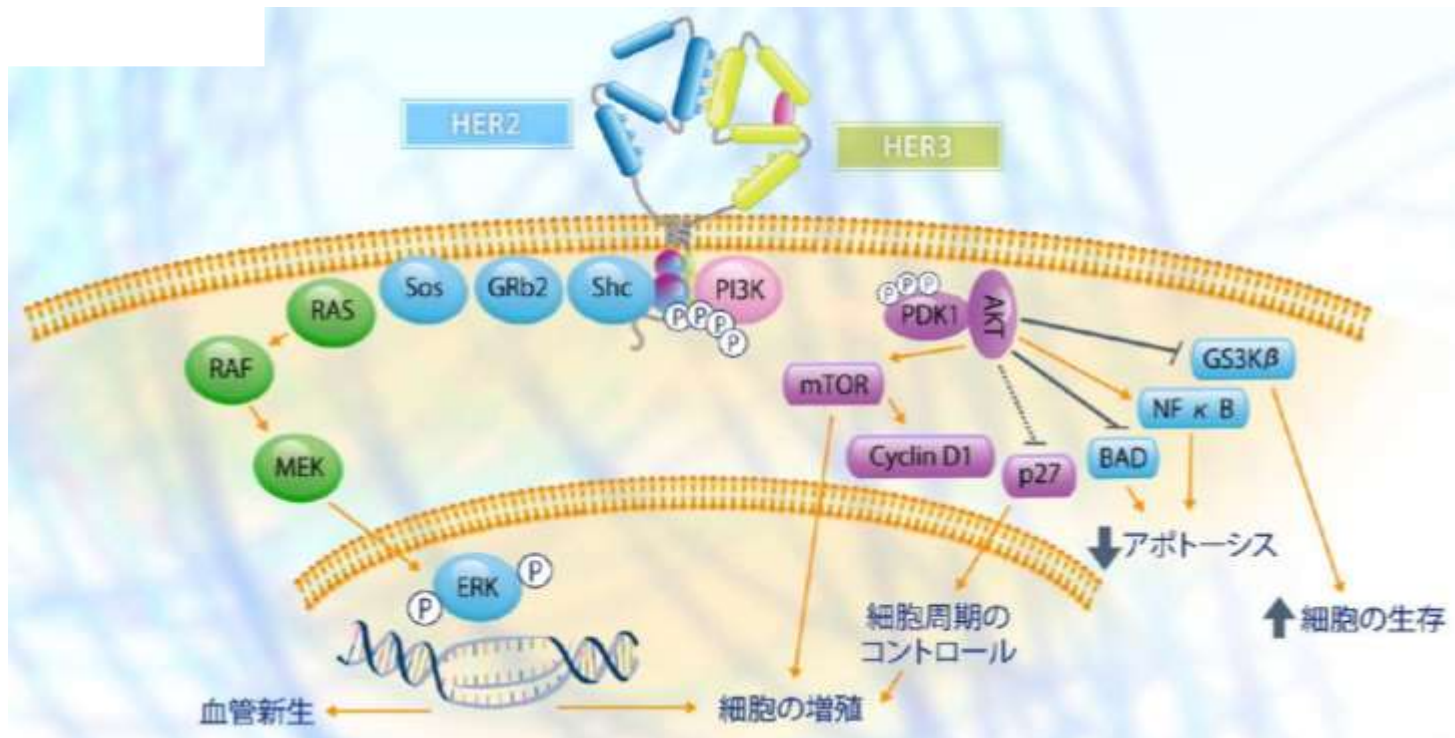
(ASCO/CAPガイドライン 2019年)

運用方法

- ER, PgR いずれも 1%未満はホルモン受容体陰性
- 少なくともどちらか一方に陽性細胞が1%以上認められる場合、内分泌療法を考慮することは可能
- 占有率が低い場合（10%未満など）にはリスクとベネフィットのバランスで内分泌療法適応の可否を決定する。

HER2

- HER2蛋白は細胞膜に局在する受容体で、チロシンキナーゼ活性を有し、細胞の増殖や分化に関わる。
- *HER2*遺伝子は17番染色体に存在する。



HER2

検索の意義 抗HER2療法の適応があるか否かを知るため

- 浸潤性乳癌の15～25%で遺伝子増幅や蛋白過剰発現が見られる。
- HER2は浸潤性乳癌の予後予測因子、効果予測因子である。
- 10～24%程度の症例で原発巣と転移巣でHER2発現状況が異なる。

HER2

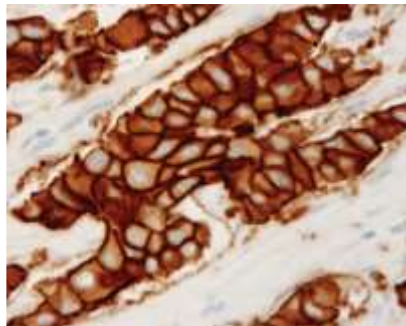
検索方法 免疫組織化学法（IHC法）や in situ hybridization (ISH) 法

- IHC法はHER2蛋白の発現を、ISH法はHER2遺伝子の増幅を評価する方法である。
- 浸潤癌成分を評価する。

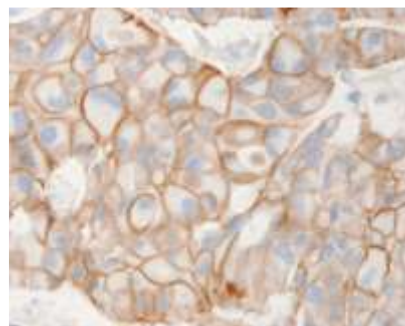
HER2 IHC法の判定方法

- 体外診断用医薬品として市販されている一次抗体を使用し、プロトコールに従う。
- 細胞膜の染色強度と陽性細胞割合をもとに4段階に分け、0, 1+を陰性、2+ を equivocal(未確定), 3+を陽性と判定する。
- IHC2+の場合は、同一標本をISH法によって検索するか、別標本をIHCまたはISH法で検索し、再判定を行う。

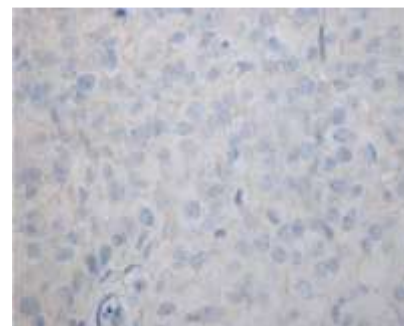
3+



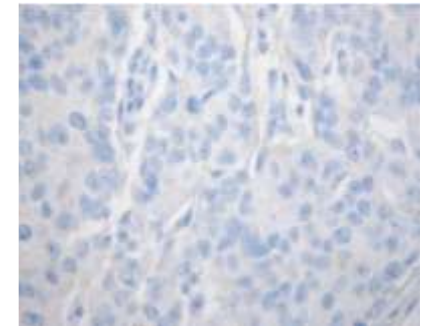
2+



1+

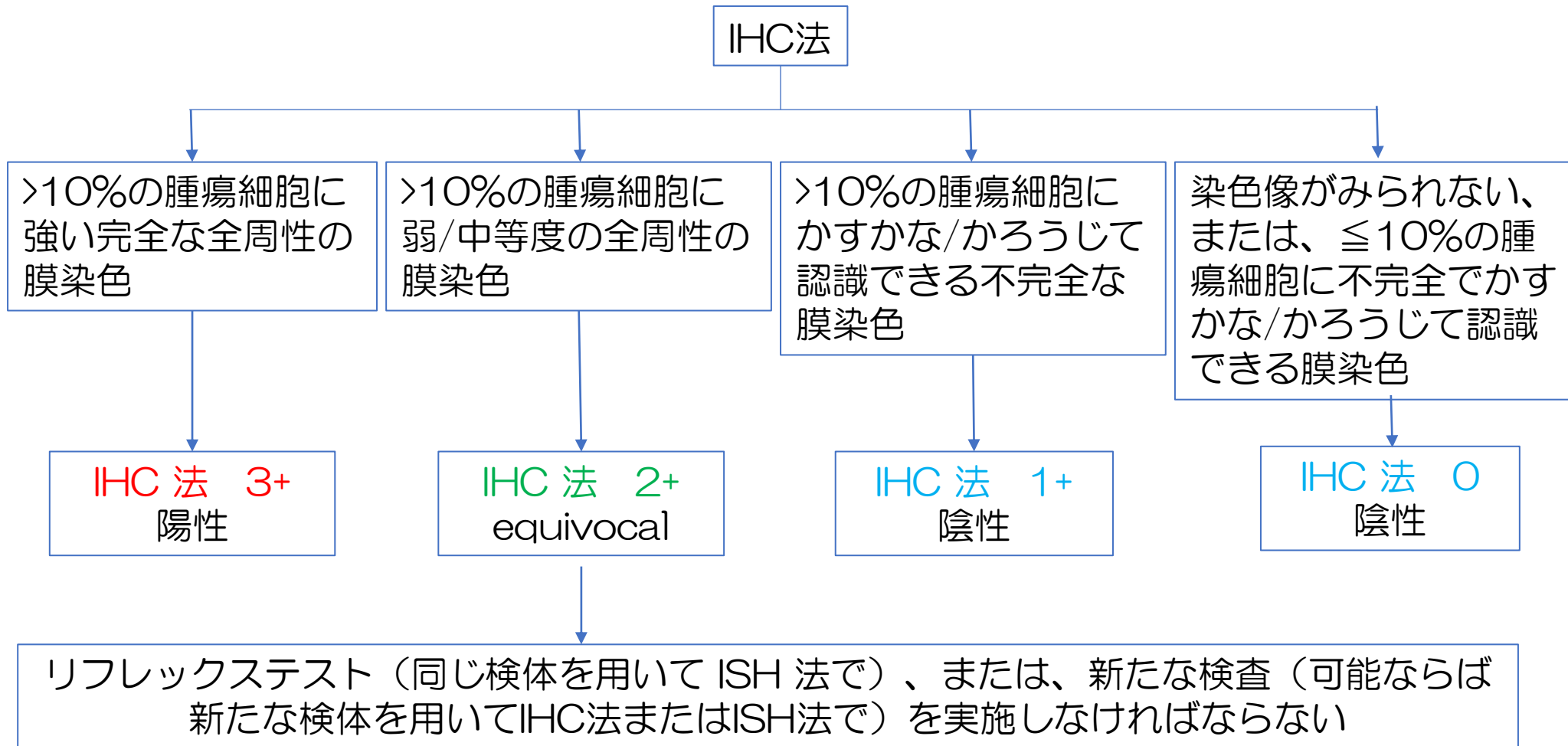


0



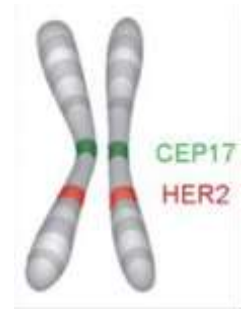
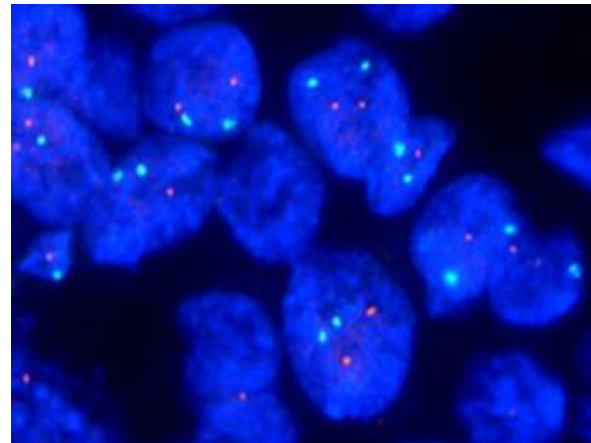
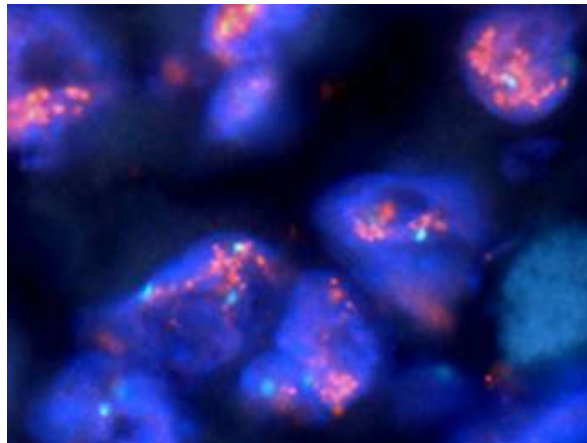
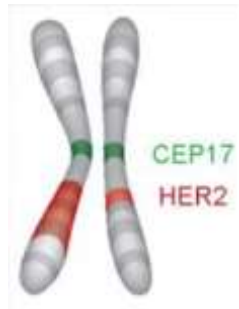
ASCO/CAP HER2 検査ガイドライン2018

IHC法によるHER2検査アルゴリズム



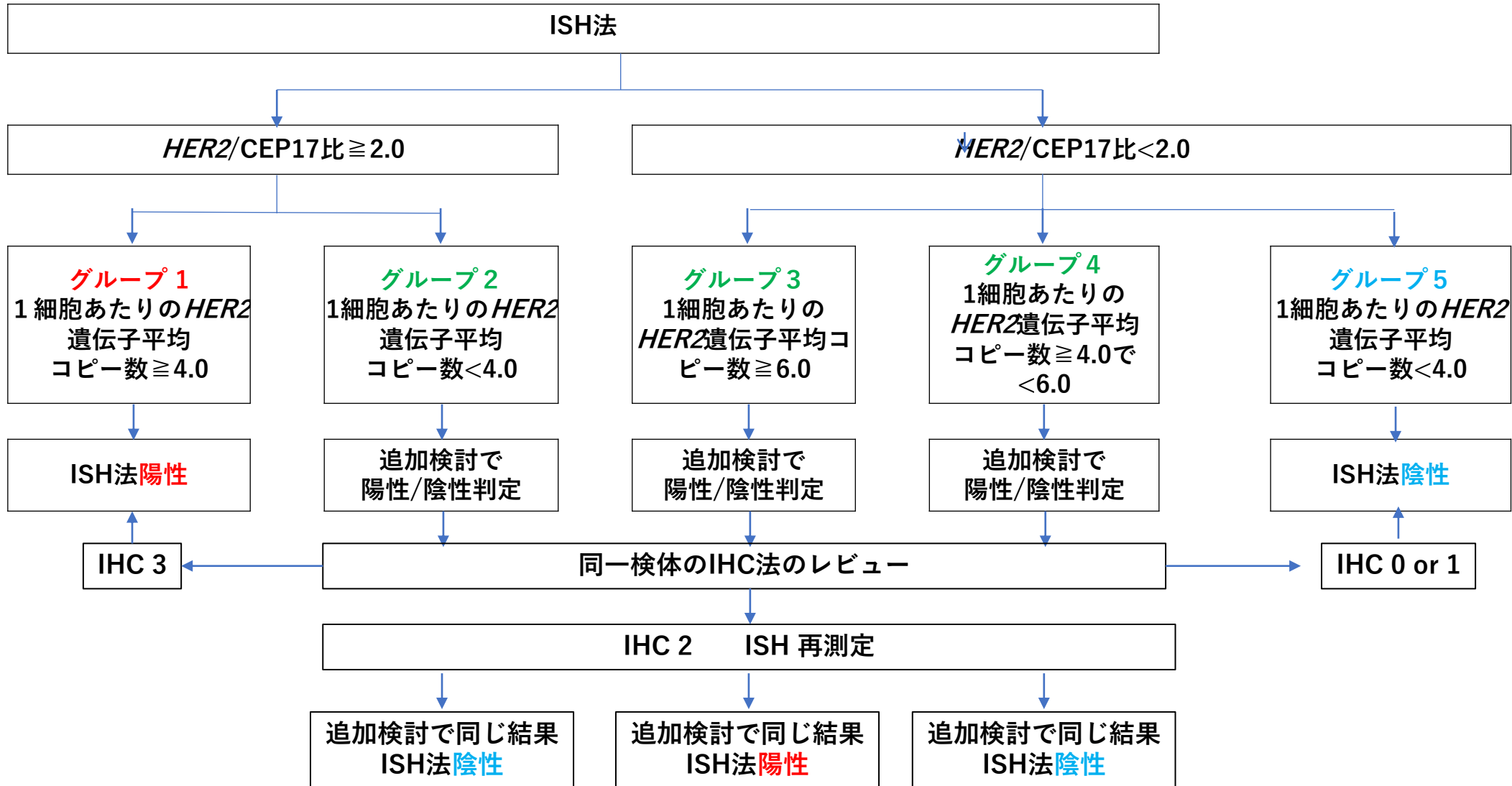
HER2 ISH法の判定方法

- FISH法やDISH法が用いられている。
- *HER2*遺伝子とセントロメア(CEP)17をそれぞれ標識し、*HER2*/CEP17比と1細胞あたりの*HER2*遺伝子平均コピー数を算出する。
- ASCO/CAPガイドライン2018年版のアルゴリズムに従って判定することが望ましい。



ASCO/CAP HER2 検査ガイドライン2018

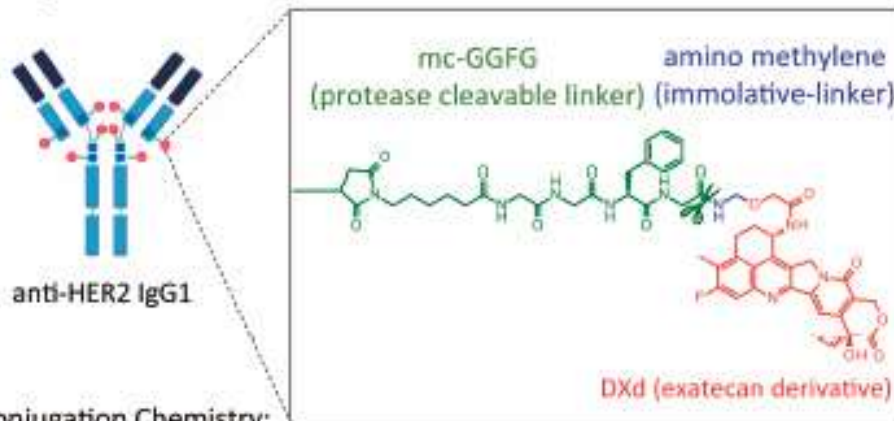
デュアルプローブを用いた ISH法によるHER2検査アルゴリズム



HER2 低発現乳癌

- IHC1+または IHC2+かつISH陰性
- 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トラスツズマブデルクステカン(T-DXd)が適応。
- 試薬および染色条件が厳密に定められた**コンパニオン診断薬**によるIHC法で判定する。

[fam-] trastuzumab deruxtecan



Conjugation Chemistry:

The linker is connected to cysteine residue of the antibody

Drug-to-Antibody Ratio: 7 to 8

High potency novel payload

High drug-to-antibody ratio

Good homogeneity

Tumor-selective cleavable linker

Stable linker-payload

Short half-life payload

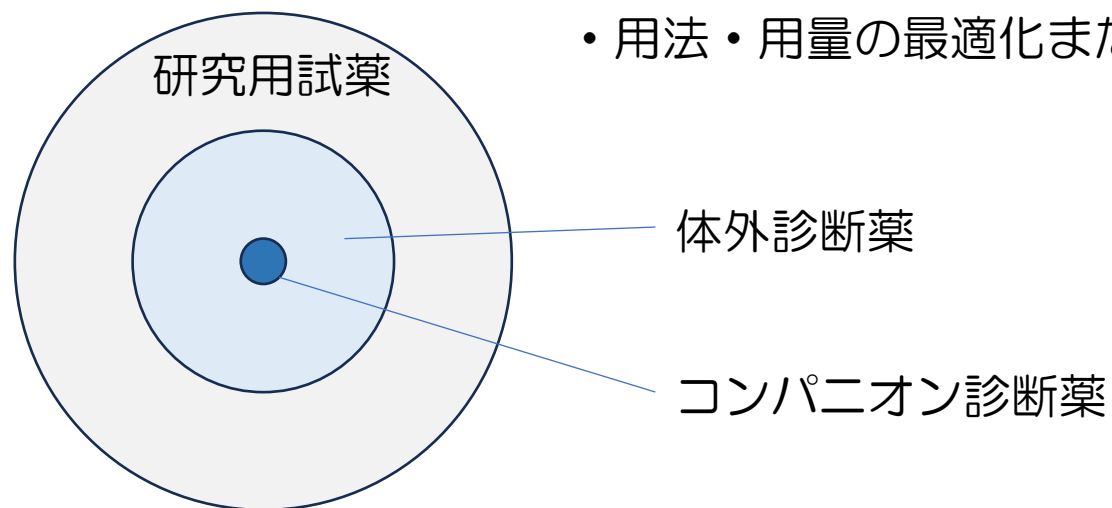
Bystander effect

体外診断薬 (IVD) とコンパニオン診断薬 (CDx)

体外診断薬 臨床検査薬のうち、疾病の診断に使用されることが目的とされているもの。

コンパニオン診断薬 以下の目的で使用されるもの。治療薬と1:1で対応している。

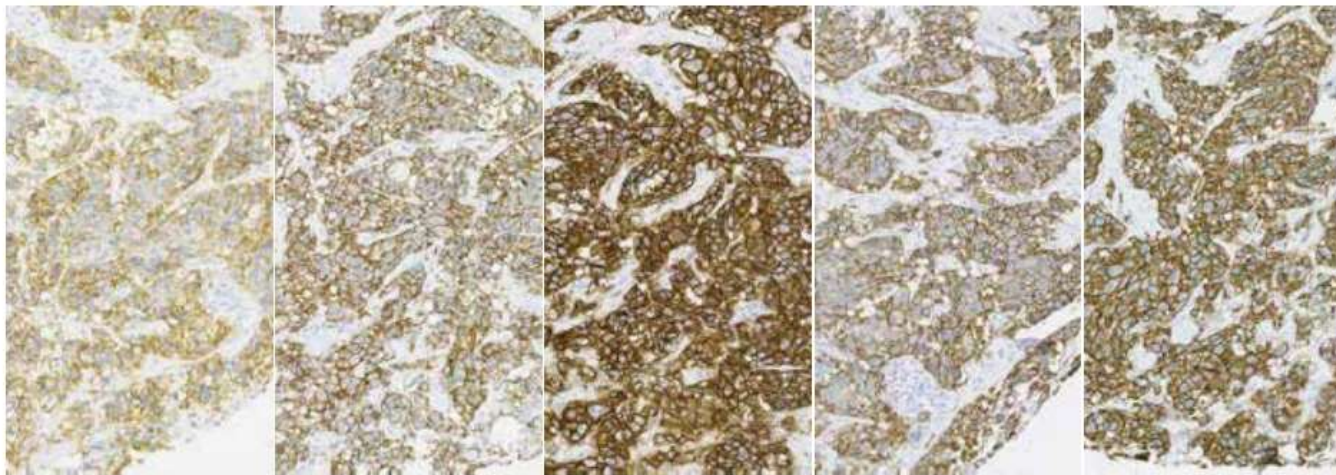
- 効果がより期待される患者を特定するため
- 特定の副作用が発現するおそれの高い患者を特定するため
- 用法・用量の最適化または投与中止の判断を適切に実施するため



HER2検査法

販売名	製造販売会社	抗体
Bond ポリマーシステム HER2テスト	ライカマイクロシステムズ株式会社	CB11
ダコ HercepTest II	アジレント・テクノロジー株式会社	poly
ヒストファイン HER2キット (MONO)	株式会社ニチレイバイオサイエンス	SV2 - 61γ
ヒストファイン HER2キット (POLY)	株式会社ニチレイバイオサイエンス	poly
ベンタナ ultraView パスウェーHER2(4B5)	ロシュ・ダイアグノスティックス	4B5

T-DXdのコンパニオン診断薬はベンタナHER2(4B5)。



Leica

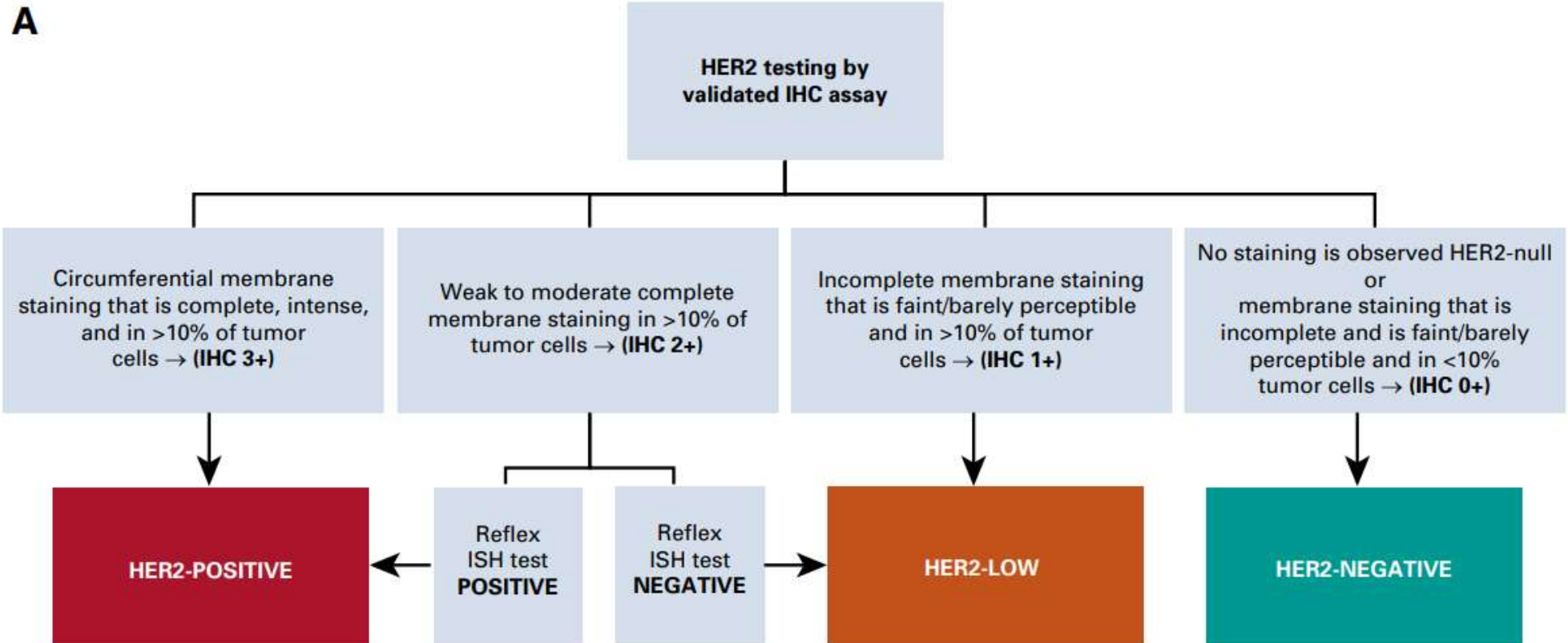
Agilent

Nichirei Mono

Nichirei Poly

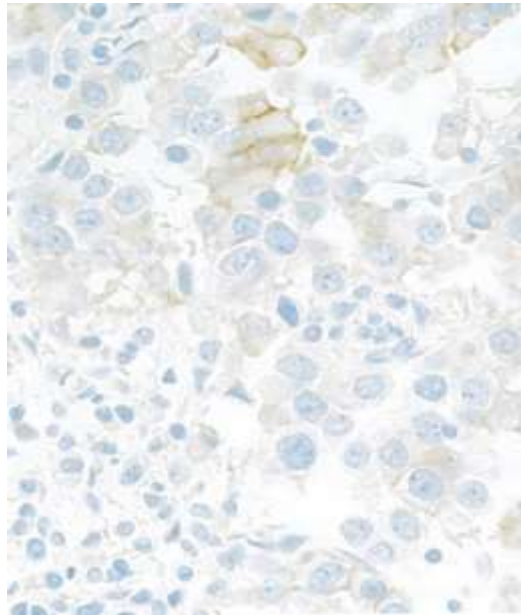
Roche / Ventana

HER2 low BC を定義するためのアルゴリズム

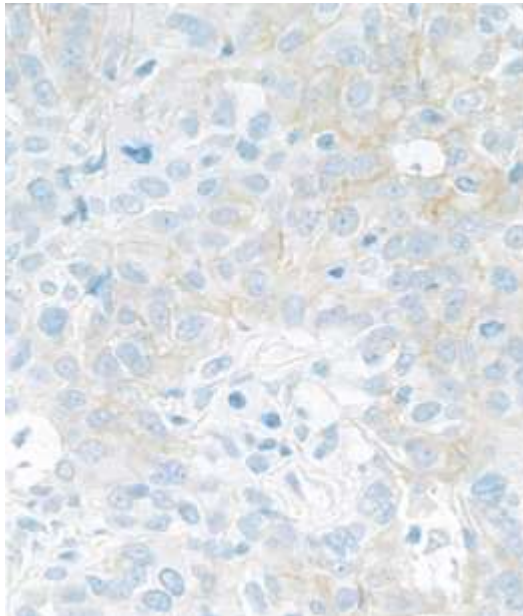


鑑別が難しい

HER2 スコア1+とスコア0



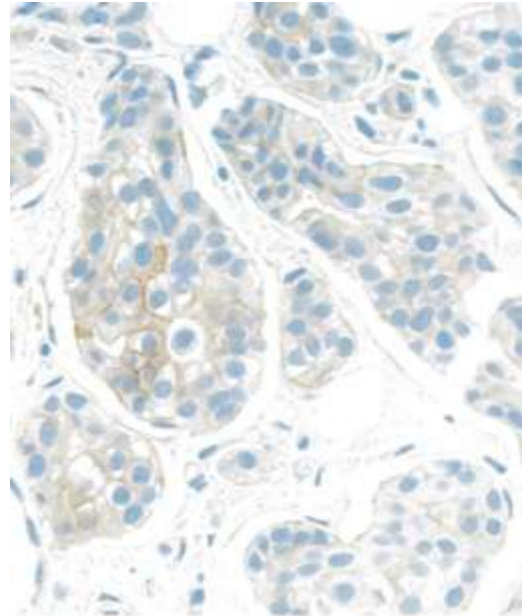
スコア1+



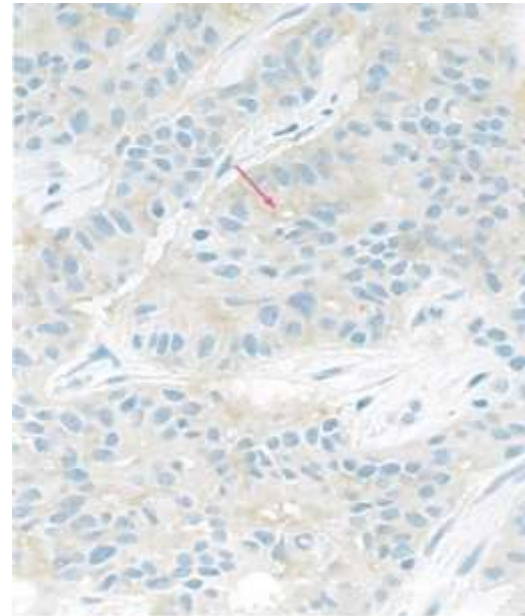
スコア1+



鑑別が難しい



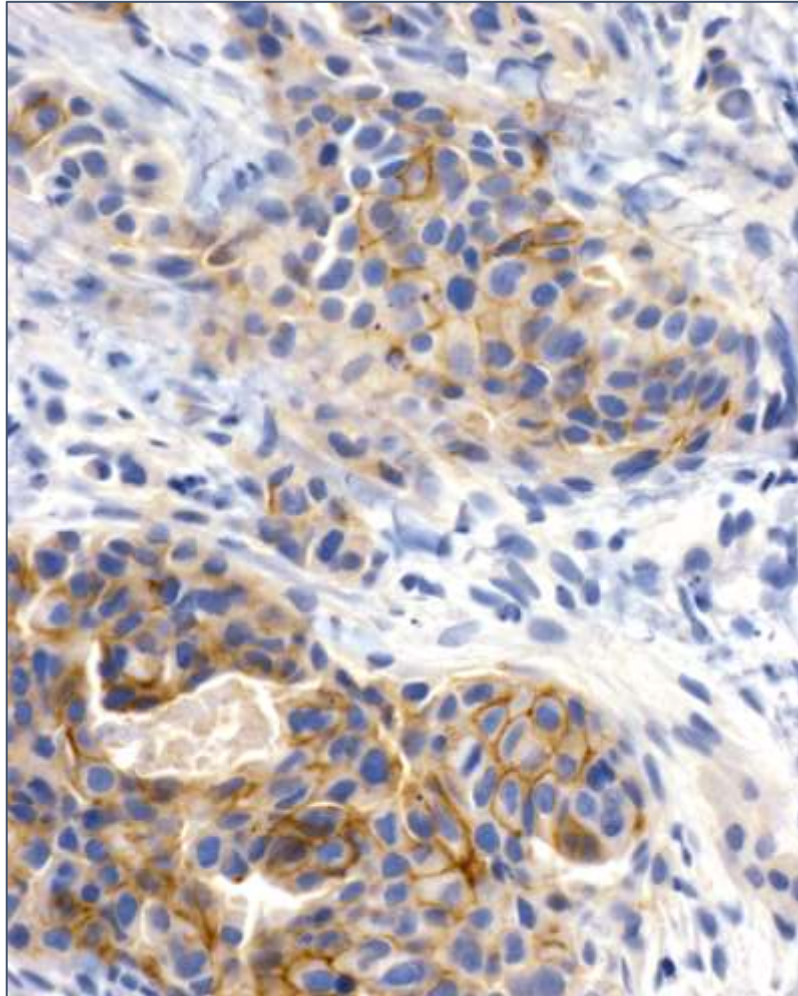
スコア0



スコア0

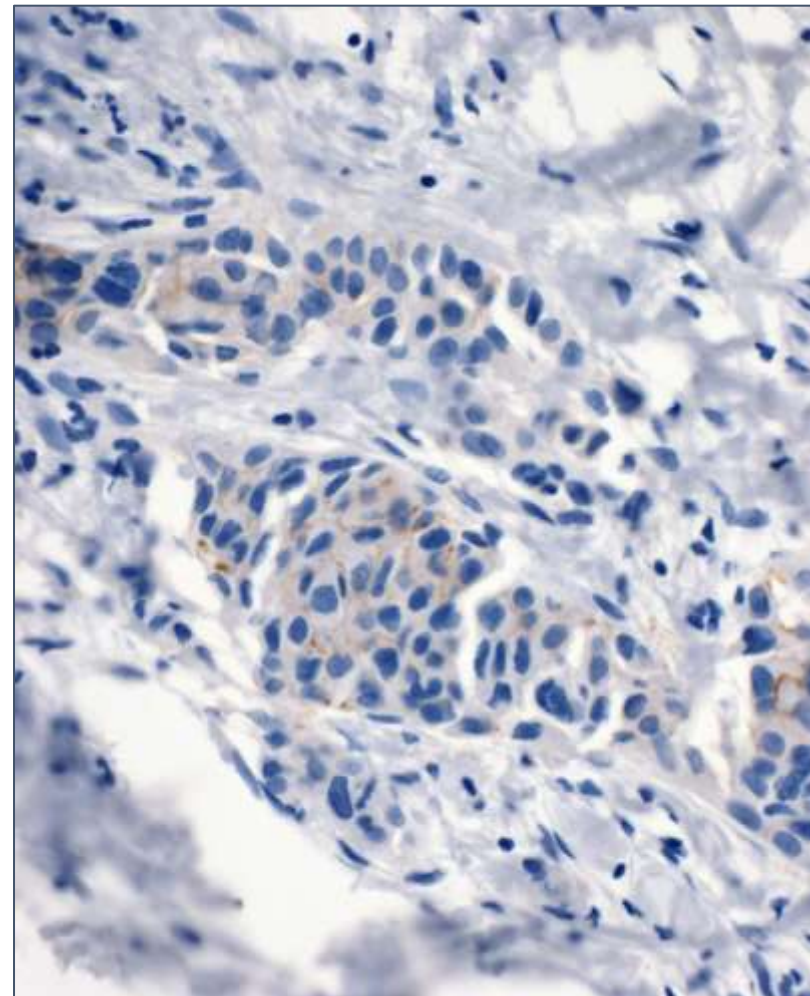
ベンタナ ultraView パスウェーHER2(4B5) プロトコールによる違い

旧プロトコール



判定 スコア1+

新プロトコール



判定 スコア0

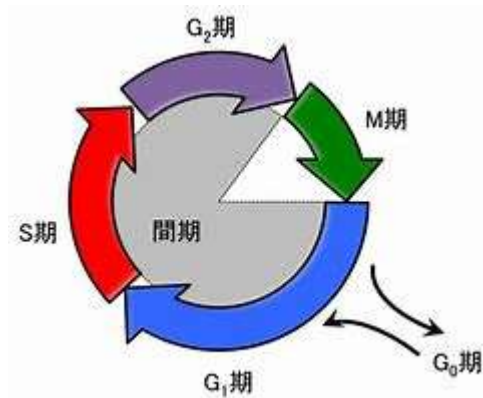
HER2 低発現の判定

HER2 低発現乳癌に対して T-DXdを投与するためには、CDx検査薬である、**ベンタナ ultraView パスウェーHER2(4B5)**による診断が必須

- ベンタナ ultraView パスウェーHER2(4B5)と指定の染色装置を用い、グローバルプロトコールに従って**2023年3月27日以降に染色**された標本を評価。
- 従来通りスコア判定を行うが、微妙な染色像の判定であり、最新の注意を要する。
- 従来のHER2判定よりもコンパニオン診断薬は低めに判定される。
- 微妙な判定であり、診断者間一致率は低い傾向にある。
- 固定条件等、preanalytical な要素に注意する必要がある。

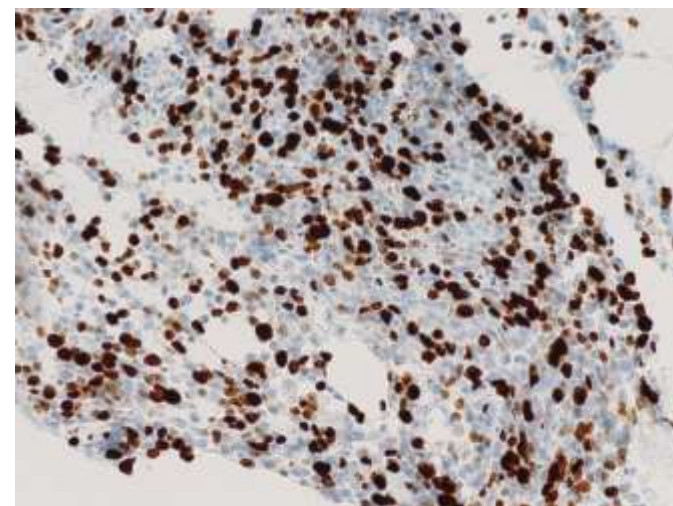
Ki 67

- 細胞増殖マーカーである。
- G₀期以外の細胞周期にある細胞の核内に発現している。
- ER陽性・HER2陰性乳癌において、予後因子であることはほぼ確実であるが、薬物療法の治療効果予測には有用であるとはいえない。
- KI67の結果単独で治療方針を決定すべきではない。



Ki 67評価方法

- IHC法を用いる。
- 核が染色されたものを陽性細胞として陽性細胞割合を評価する。
- 浸潤癌細胞のみを評価する。
- 評価方法は標準化されていない。
- カットオフ値の設定は困難であり、少なくとも10~25%の場合には、術後治療の判定材料に用いるべきではない。



PD-L1

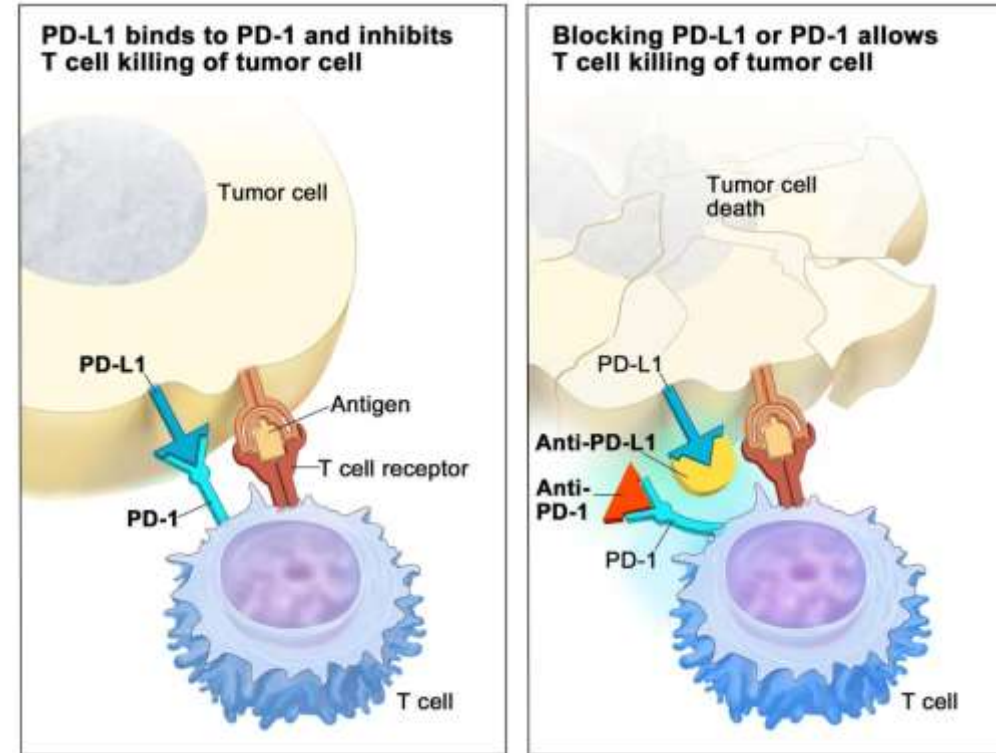
- 腫瘍細胞上のPD-L1やT細胞上のPD-1などのチェックポイントたんぱく質は免疫応答を抑制することにより、免疫逃避機構に関連している。
- これらを標的とした免疫チェックポイント阻害薬が開発された。

アテゾリズマブ

(抗PD-L1ヒト化モノクローナル抗体)

ペムブロリズマブ

(抗PD-1ヒト化モノクローナル抗体)



<https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/immunotherapy/checkpoint-inhibitors>

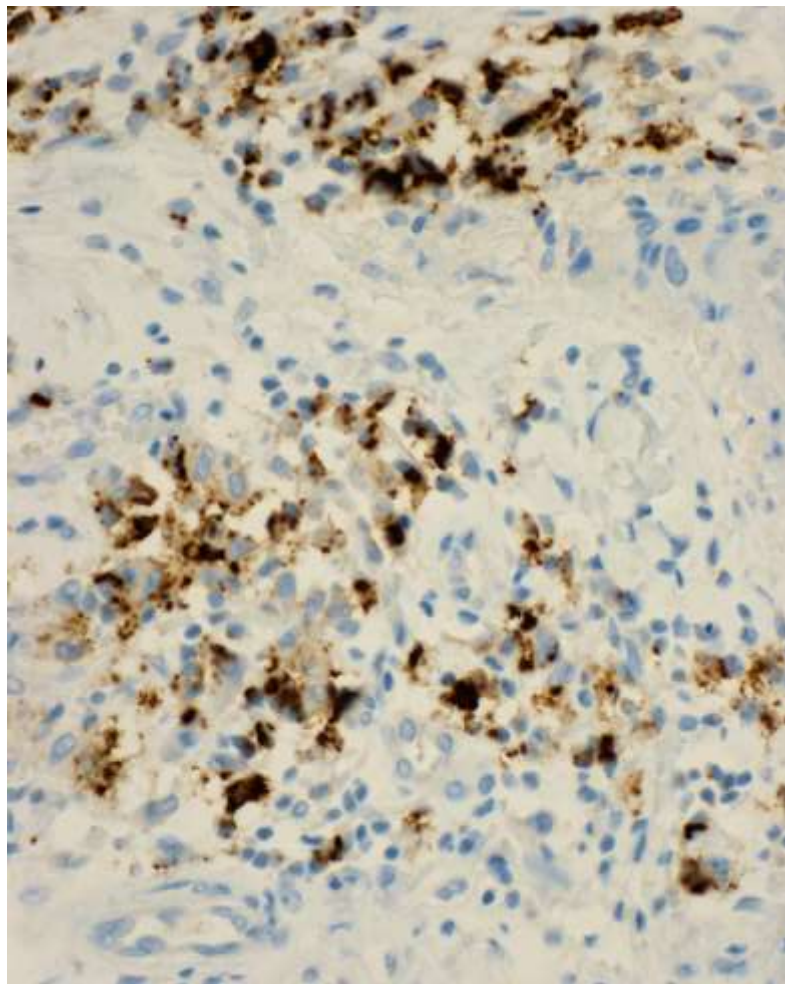
PD-L1検査

- ホルモン受容体陰性かつHER2陰性の手術不能・再発乳癌に免疫チェックポイント阻害薬を用いる際にIHC法で検索する。
- 2種類の免疫チェックポイント阻害薬にそれぞれ異なるコンパニオン診断薬があり、判定方法も異なる。

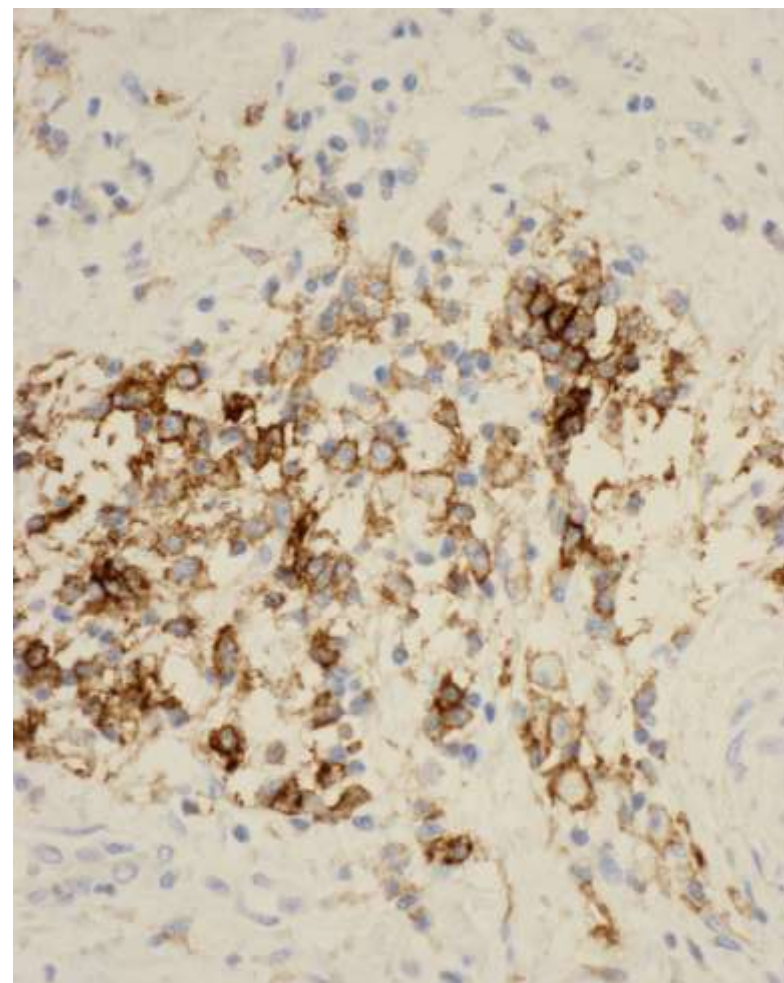
PD-L1検査キット	ベンタナ OptView PD-L1 (SP142)	PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」
治療薬	アテゾリズマブ (抗PD-L1ヒト化モノクローナル抗体)	ペムブロリズマブ (抗PD-1ヒト化モノクローナル抗体)
PD-L1抗体の結合部位	細胞質内ドメイン	細胞外ドメイン
染色装置	ベンタナベンチマークシリーズ	ダコ Autostainer Link 48
判定基準	腫瘍浸潤免疫細胞におけるPD-L1発現率 (IC)	Combined Positive score (CPS)
評価方法	PD-L1陽性の浸潤免疫細胞が存在する領域の割合	PD-L1陽性浸潤癌細胞とリンパ球およびマクロファージの総数/浸潤癌細胞数
薬剤投与基準	IC 1%以上	CPS10以上

SP142 と 22C3 の比較

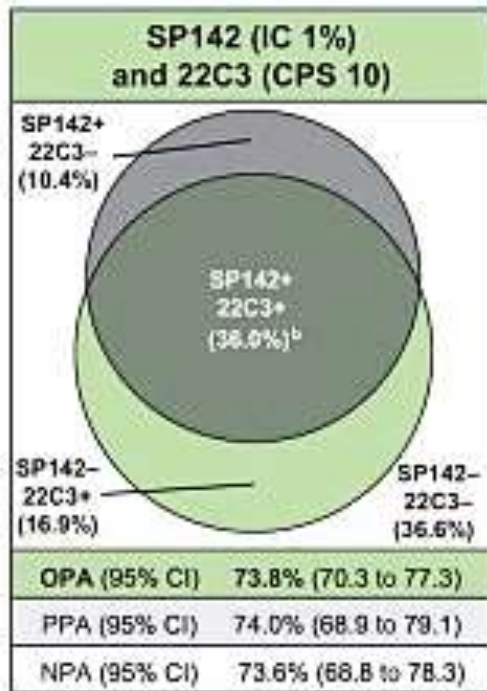
SP142



22C3



Impassion130における SP142 と 22C3 の比較



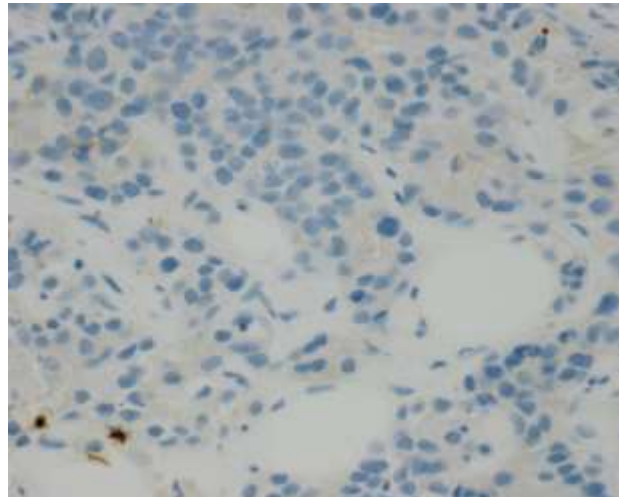
SP142+ 22C3+ 36.0%

SP142+ 22C3- 10.4%

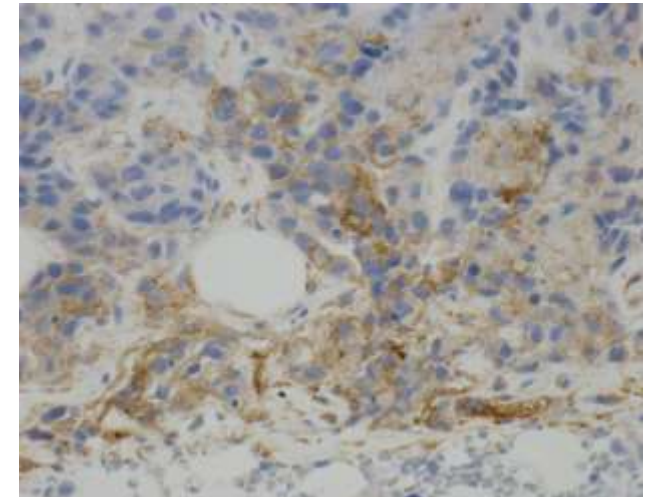
SP142- 22C3+ 16.9%

SP142 と 22C3の結果は必ずしも一致しない。

SP142-



22C3+



JNCI 2021 Jun 7;113(12):1733-1743.

PD-L1検査時にはどちらの検査も行う必要がある。

BRCA1/2遺伝子検査

- BRCA1およびBRCA2遺伝子産物はゲノム安定性に関与している。
(細胞周期チェックポイントやDNA相同組み換え修復)
- 生涯変化しない生殖細胞系列の遺伝学的情報を検出・解析する。
 - 遺伝性乳癌卵巣癌症候群(HBOC)の診断目的
 - オラパリブの適応を判断するコンパニオン診断
- 施設基準あり。(遺伝カウンセリング加算の施設基準に係る届出)

分類	内容	結果の解釈	結果
病的変異	BRCA1/2に病的バリエーションがある	DELETERIOUS	陽性
病的変異疑い	BRCA1/2に病的と疑われるバリエーションがある	SUSPECTED DELETERIOUS	
臨床的意義不明のバリエーション	現在はBRCA1/2に病的かどうか区別がつかない	UNCERTAIN CLINICAL SIGNIFICANCE	陰性
遺伝子多型の可能性	BRCA1/2に病的バリエーションでない可能性が高い		
遺伝子多型	BRCA1/2に病的バリエーションがない		

固形癌における効果予測マーカー

ドライバー変異関連

HER2

EGFR

KRAS

NTRK

•

•

DNA修復関連

gBRCA1/2

tBRCA1/2

HRD

dMMR

MSI

がん免疫関連

TMB

PD-L1

がん遺伝子パネル検査

- 複数の遺伝子の変化を同時に検出できる。
- 最終的に治療薬に到達できる割合は5～10%程度
- 高い精度を保つには検体の品質管理が極めて重要。

OncoGuide NCC オンコパネル

FoundationOne CDx

FoundationOne Liquid CDx

Gurdant360 CDx

GenMineTOP(R)

プロファイリング検査(CGP)：

出力された結果に基づき医師による結果解釈が行われ、治療方針が策定される。

コンパニオン診断(CDx)：

個別マーカーを測定し、承認された医薬品の適応の可否を決定する。

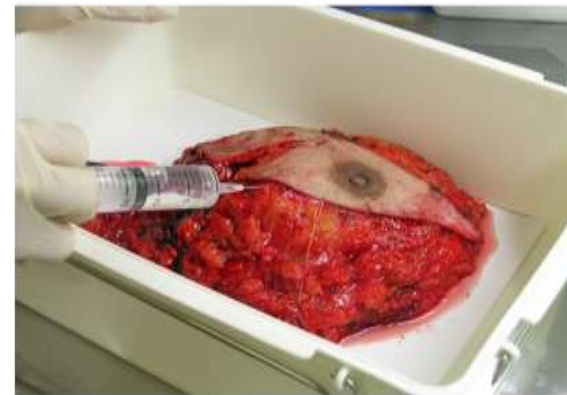
FoundationOne CDxがカバーするコンパニオン診断と関連する薬物

遺伝子変異等	関連する医薬品	がん種
活性型EGFR遺伝子変異	アファチニブ・エルロチニブ・ゲフィチニブ・オシメルチニブ	非小細胞肺癌
EGFRエクソン20 T790M変異	オシメルチニブメシル酸塩	
ALK融合遺伝子	アレクチニブ酸塩・クリゾチニブ・セリチニブ	
ROS1融合遺伝子	エヌトレクチニブ	
MET遺伝子エクソン14スキッピング変異	カプマチニブ塩酸塩水和物	
BRAF V600E及びV600K変異	ダブラフェニブ・トラメチニブ・ベムラフェニブ	悪性黒色腫
ERBB2コピー数異常	トラスツズマブ	乳がん
KRAS/NRAS野生型	セツキシマブ・パニツムマブ	結腸・直腸がん
高頻度マイクロサテライト不安定性	ニボルマブ	
BRCA1/2遺伝子変異	オラパリブ	卵巣がん・前立腺がん
FGFR2融合遺伝子	ペミガチニブ	胆道がん
高頻度マイクロサテライト不安定性	ペムブロリズマブ	固形がん
NTRK1/2/3融合遺伝子	エヌトレクチニブ・ラロトレクチニブ硫酸塩	
TMB-high	ペムブロリズマブ	

病理組織検体の適切な取り扱い

病理検体を用いて行うバイオマーカー検索結果は解析前の検体取扱い方法の影響を受ける。

- 速やかに十分量の10%中性緩衝ホルマリン溶液で固定する。
- 室温保持は30分以内、直ちに固定できない場合は冷蔵庫保管（3時間以内）
- 腫瘍部採取や割入れを行う。
- 推奨される固定時間は6～72時間（遺伝学的検査を行う場合は48時間以内）



症例1：60歳女性（閉経後）

2019年5月 左乳癌

- T2N1M0 Stage IIB
IDC, HG2, ER 40%, PgR 5%, HER2 1+, Ki67 LI 18.8%
- 手術 Bp + Ax
IDC, pT2, pN1a, 断端陰性
- 標準治療＋放射線治療

2023年2月 頸部～縦郭リンパ節腫大、多発肺結節

- 腫大リンパ節の一部を摘出生検
metastasis of IDC, ER 0%, PgR 0%, HER2 1+, Ki 67 LI 50%

Q. 今後、必要なバイオマーカー検索は何か？

症例 1 解答

- PD-L1 検査 ホルモン受容体陰性かつHER2陰性の手術不能・再発乳癌に免疫チェックポイント阻害薬を用いる際にはPD-L1検査が必要。SP142 および 22C3 **二種類の検査**を行う。
- BRCA検査 化学療法実施後にオラパリブを考慮する場合、必要となる。**施設基準**在り。
- HER2低発現 ベンタナ ultraView パスウェーHER2(4B5)で2023年3月27日以降に染色されたもので判定する必要あり。よって、以前にHER2 1+と判定されていても、**再検が必要**。
- がん遺伝子パネル検査
標準治療終了後に考慮する。
必須の検査ではないが、がん遺伝子パネル検査を行う可能性を考えて
転移巣の生検を考慮しておく。
(**十分な組織量を採取し、検体取扱いに注意**する。)

* 転移巣のバイオマーカー検索は重要。

症例2：60歳女性（閉経後）

T2N1M0 Stage IIB 乳房全切除術を行った。
切除検体の取り扱いについて適切なものはどれか。

1. 腫瘍部よりバイオロジー検索用検体を採取し、手術終了（2時間後）まで生理食塩水に浸し、室温においた。
2. 脂肪量が多かったため、15%ホルマリン液で固定した。
3. 検体を冷蔵庫に保管し、手術終了後（2時間後）に固定を開始した。
4. 大きな検体だったため、5日間かけてしっかり固定した。
5. 固定前に腫瘍部に割をいれた。

症例2解答

T2N1M0 Stage IIB 乳房全切除術を行った。
切除検体の取り扱いについて適切なものはどれか。

1. 腫瘍部よりバイオロジー検索用検体を採取し、手術終了（2時間後）まで生理食塩水に浸し、室温においた。
2. 脂肪量が多かったため、15%ホルマリン液で固定した。
3. 検体を冷蔵庫に保管し、手術終了後（2時間後）に固定を開始した。
4. 大きな検体だったため、5日間かけてしっかり固定した。
5. 固定前に腫瘍部に割をいれた。

直ちに10%中性緩衝ホルマリン液。

固定時間は48時間以内が望ましい。

*病理医と連携しながら行う。