

遺伝子・染色体検査部門

精度管理事業担当者：鈴木 翔太（有限会社 胎児生命科学センター 検査部）

実務分担者：岩田 英紘（日本赤十字社 愛知医療センター名古屋第二病院）

濱田 智博（豊橋市民病院）

I. はじめに

本年度は、HER2 FISH検査における基礎知識や検査法に関する文章設問と、HER2 FISH画像を使用した設問を出題した。

また、HER2 FISH検査を院内で実施しているか否かについて、(1)院内で実施している (2)院内で実施していない(すべて外注している)の選択肢で調査を行い、(1)を院内実施施設、(2)を院内未実施施設としてそれぞれ評価を行った。

II. 対象項目

1. HER2 FISH文章設問

院内実施施設：評価対象設問7設問

院内未実施施設：評価対象設問3設問

2. HER2 FISHフォトサーベイ

院内実施施設のみ評価対象：3設問

III. 設問について

1. HER2 FISH文章設問1～7

院内実施施設：評価対象設問1～7

院内未実施施設：評価対象設問1～3

2. HER2 FISHフォトサーベイ

1) HER2遺伝子増幅の判定

院内実施施設のみ評価対象：設問8～10

2) FISH法シグナル計測

評価対象外：設問8～10

- ① 平均HER2コピー数
- ② 平均CEP17コピー数
- ③ HER2/CEP17比

IV. 参加施設数について

遺伝子・染色体検査部門への参加は23施設であった。
そのうち、院内実施施設は12施設、院内未実施施設は11施設であった。

V. 評価基準

設問1～10について評価を設定した。

正解をA、不正解をDと設定し評価した。

評価 A	正解	「基準」を満たし、極めて優れている
評価 D	不正解	「基準」から極めて大きく逸脱し、早急な改善が必要

Ⅵ. 調査結果

設問1～10の正解および正解率を、それぞれ院内実施施設と院内未実施施設について示した。(院内未実施施設の設問4～10は評価対象外)

	正解	正解率
設問 1	⑤HER2 FISH 検査に使用する未染標本は 6μm 以上の厚さで作製する	院内実施 100.0%
		院内未実施 (90.9%)
設問 2	③HER2 発現状況は原発巣と転移巣の間で大きな差がなく、転移再発乳癌においても原発巣での検索で代用可能である	院内実施 100.0%
		院内未実施 (90.9%)
設問 3	②同一乳癌症例の針生検標本と手術標本においても、HER2 検査結果が異なることは起こりうる	院内実施 100.0%
		院内未実施 100.0%
設問 4	②核の境界が明瞭な部分	院内実施 91.7%
		院内未実施 (85.7%)
設問 5	③乳癌細胞として計測対象と判断し、HER2 シグナル 2、CEP17 シグナル 2 とカウントする	院内実施 100.0%
		院内未実施 (100.0%)
設問 6	④測定者 A もしくは B が同一標本で、新たに 20 個の癌細胞を計測し、1 回目と 2 回目の合計 40 個の核のシグナル数から再度 HER2/CEP17 比を算出した	院内実施 91.7%
		院内未実施 (85.7%)
設問 7	⑤検体が過剰に固定されている	院内実施 75.0%
		院内未実施 (85.7%)

設問 8	①HER2 遺伝子増幅 陰性	院内実施 100.0%
		院内未実施 (100.0%)
設問 9	②HER2 遺伝子増幅 陽性	院内実施 100.0%
		院内未実施 (100.0%)
設問 10	②HER2 遺伝子増幅 陽性	院内実施 100.0%
		院内未実施 (100.0%)

VII. 解説および考察

1. HER2 FISH文章設問

全施設評価対象：設問1～3

1) 設問1

HER2(human Epidermal Growth Factor Receptor Type 2)検査について誤っているものを選んでください。

- ① IHC(immunohistochemistry)法とISH(*in situ* hybridization)法は並列の關係に位置付けられており、診療報酬では併算定も認められている
- ② 抗HER2薬適応検査ではないが、血清を対象とするCLIA(chemiluminescent immunoassay)法も保険収載されており、転移性乳癌患者の再発モニタリングや治療効果評価目的で用いられることがある
- ③ すべての浸潤性乳癌原発巣の手術標本、あるいは術前加療対象者の場合は術前確定診断検体(針生検標本)が対象となる
- ④ ISH法には、FISH(fluorescence *in situ* hybridization)法以外にもCISH(chromogenic *in situ* hybridization)法やDISH(dual color *in situ* hybridization)法などが保険適用されている
- ⑤ HER2-FISH検査に使用する未染標本は6μm以上の厚さで作製する

回答(院内実施)	回答数	割合(%)
⑤HER2-FISH検査に使用する未染標本は 6μm 以上の厚さで作製する	12	100.0

回答(院内未実施)	回答数	割合(%)
⑤HER2-FISH検査に使用する未染標本は 6μm 以上の厚さで作製する	10	90.9
①IHC (immunohistochemistry)法 と ISH(<i>in situ</i> hybridization)法 は並列の關係に位置付けられており、診療報酬では併算定も認められている	1	9.1

【正解】 ⑤

- ① IHC法とISH法は並列の關係に位置付けられており、両者とも保険収載され、平成24年度の診療報酬改定で併算定も認められるようになった。
- ⑤ 切片の厚さはIHC法4μm、ISH法5μmが最適である。FFPEから4～6μmの厚さの組織切片スライドを作製する。よって、⑤は誤りである。

2) 設問2

HER2検査に使用する検体として誤っているものを一つ選んでください。

- ① 推奨される固定時間は切除検体および生検検体ともに6～72時間である
- ② 乳腺穿刺吸引細胞診標本によるHER2 FISH法は、適用されない
- ③ HER2発現状況は原発巣と転移巣の間で大きな差がなく、転移再発乳癌においても原発巣での検索で代用可能である
- ④ セルブロック法により、生検不可能な再発巣あるいは胸水・腹水などの体腔液由来の検体でのホルモン受容体およびHER2検索が可能となる
- ⑤ DCIS(Ductal carcinoma *in situ*)においては、HER2検査結果が術後治療の選択に影響を与えることはないと考えられるため、現時点(2021年3月現在)ではHER2検査を勧める根拠がない

回答(院内実施)	回答数	割合(%)
③HER2 発現状況は原発巣と転移巣の間で大きな差がなく、転移再発乳癌においても原発巣での検索で代用可能である	12	100.0

回答(院内未実施)	回答数	割合(%)
③HER2 発現状況は原発巣と転移巣の間で大きな差がなく、転移再発乳癌においても原発巣での検索で代用可能である	10	90.9
①推奨される固定時間は切除検体および生検検体ともに 6～72 時間である	1	9.1

【正解】 ③

- ① 推奨される固定時間は切除検体と生検検体どちらも6～72時間であり、6時間未満の検体は避けるべきである。
- ② ④HER2の判定にあたっては、浸潤巣での発現を評価することが明記されており、細胞診検体の固定方法、染色性や遺伝子増幅の判定方法は標準化されていない。以上より、乳腺穿刺吸引細胞診標本によるHER2検査は、浸潤部を特定した判定が困難なこと、評価方法が確立していないことより、原則として勧められない。

ただし、針生検による検体採取が困難な部位から得られた細胞診検体を用いてHER2検索を行う場合は、セルブロックによる評価を考慮する。なおアルコール固定された細胞診検体はHER2検索に用いない。

可能な限り、腫瘍組織の採取を試みるべきである（針生検、経内視鏡的生検など）。生検ができないような箇所から採取した腫瘍細胞検体もホルマリン固定でセルブロック化した標本からHER2検査が可能である。

- ⑤ 乳癌診療ガイドライン1 治療編 2018年版「FQ2.非浸潤性乳管癌におけるホルモン受容体やHER2の検索は勧められるか？」に記載されている。
- ③ HER2検査の結果に関し、原発巣と再発・転移巣で異なる症例が存在する。治療選択の観点からは再発時点で再発・転移巣検体での再評価が推奨される。よって、③は誤りである。

3) 設問3

HER2検査の記述として正しいものを一つ選んでください。

- ① ヒト乳癌症例の5～10%でHER2遺伝子の増幅とHER2タンパクの過剰発現が認められる
- ② 同一乳癌症例の針生検標本と手術標本においても、HER2検査結果が異なることは起こりうる
- ③ 多発浸潤癌の場合、必ずそれぞれの病巣に対し、HER2検査を行わなければならない
- ④ 乳癌では、同一浸潤癌巣内におけるHER2発現状況に不均一性(heterogeneity)が存在することはない
- ⑤ 乳癌の組織型によってHER2検査の再検索を考慮してはいけない

回答(院内実施)	回答数	割合(%)
②同一乳癌症例の針生検標本と手術標本においても、HER2 検査結果が異なることは起こりうる	12	100.0
回答(院内未実施)	回答数	割合(%)
②同一乳癌症例の針生検標本と手術標本においても、HER2 検査結果が異なることは起こりうる	11	100.0

【正解】 ②

- ② 同一乳癌症例の針生検標本と手術標本ではホルモン受容体やHER2の判定結果が異なることは起こりうる。判定結果の不一致は、腫瘍内の不均質性などによることが想定される。術前薬物療法症例における手術標本と針生検標本の不一致は、前述の理由に加え薬物によ

る癌の生物学的な性質の変化などが原因として挙げられる。よって、②は正しい文章である。

- ① ヒト乳癌症例の15～25%でHER2遺伝子の増幅とHER2タンパクの過剰発現が認められる。
- ③ 多発浸潤癌の場合、原則として最大浸潤径を示す浸潤癌が多く含まれるスライドを対象とする。検査の対象スライドとは別のスライドに、組織型や組織学的悪性度の異なる病巣が存在する場合は、追加検索を行ってもよいが、全浸潤癌標本に対してHER2発現の検討を行うことは、現時点でエビデンスがない。
- ④ これらの同一乳房内に同時に見られる複数の浸潤癌巣の間で、ER、PgR、HER2の発現状況が互いに異なる症例の存在が報告されている。HER2に関しては、個々の浸潤癌の比較で6.0～9.7%の相違が報告されており、同一組織型の悪性度であってもHER2発現状況が異なる症例が少数存在する。
- ⑤ 病理医あるいは臨床医が、組織型とHER2判定結果との間に乖離があると判断した場合は、HER2の再検索を考慮してもよい。特に、明らかに予後の良いタイプの癌がHER2陽性結果を示すなど、HER2判定と他の病理組織学的所見に齟齬が感じられる場合には、再検査を行うことが推奨される。

2. HER2 FISH文章設問

院内実施施設のみ評価対象：設問4～7

1) 設問4

HER2 FISH検査において、蛍光シグナルを計測する観察領域の記述として最も適切なものを選択してください。

- ① ネクローシス部分
- ② 核の境界が明瞭な部分
- ③ バックグラウンドが低い、強度の弱いシグナル部分
- ④ 核の対比染色が弱い、シグナルが見やすい部分
- ⑤ 50%以上の核でシグナルが評価可能な部分

回答(院内実施)	回答数	割合(%)
②核の境界が明瞭な部分	11	91.7
⑤50%以上の核でシグナルが評価可能な部分	1	8.3

回答(院内未実施)	回答数	割合(%)
②核の境界が明瞭な部分	6	85.7
⑤50%以上の核でシグナルが評価可能な部分	1	14.3

【正解】 ②

最適な観察領域と計測する核の選択は、×25の対物レ

ンズを用いてハイブリダイゼーションエリアを観察し、HE染色でがん細胞であることを確認してターゲットエリアを決める。計測しない細胞として、以下のものがあげられる。

- ・ネクローシス部分や核の境界があいまいな部分
- ・強度の弱いシグナル
- ・非特異的なシグナル
- ・バックグランドが高いシグナル
- ・核の境界を決定するための対比染色が不十分な核

よって、①③④は誤りである。

また、シグナルの評価可能な部分の基準として、パシビジョン® HER-2 DNAプローブキット添付文書に、シグナル強度の評価基準が記載されている(下表)。以下の評価点数が3以上である場合に性能適とする。よって、⑤は誤りである。

表7：シグナル強度の評価基準

評価 点数	評価基準
5	極めて明るく、明確に区別できるシグナルが、ハイブリダイゼーションエリア内の少なくとも90%以上の核に存在する。
4	ハイブリダイゼーションエリア内の80%以上の核に、明るく、明確に区別できるシグナルが存在する。
3	<u>読み取り可能な(評価可能な)シグナルがハイブリダイゼーションエリア内の80%以上の核に存在する。</u>
2	ハイブリダイゼーションエリア内の25%以上の核にシグナルが見られない。または、シグナルの強度が弱すぎて、ハイブリダイゼーションエリア内の80%以上の核でシグナルを評価できない。
1	ハイブリダイゼーションの失敗により、染色標本のハイブリダイゼーションエリア内の核にシグナルが全く見られない。

2) 設問5

図1(巻頭フォト：画像1)の乳癌HER2 FISH写真の○で囲った細胞の中で、蛍光シグナルを計測すべき対象細胞の判断とHER2シグナルおよびCEP17シグナルそれぞれの計測値について、最も適切なものを選択して下さい。

[Spectrum Orange(オレンジ色)：HER2、Spectrum Green(グリーン色)：CEP17]

- ① 1の細胞は乳癌細胞として計測対象と判断し、

- HER2シグナル0、CEP17シグナル2とカウントする
 ② 2の細胞は乳癌細胞として計測対象と判断し、HER2シグナル2、CEP17シグナル1とカウントする
 ③ 3の細胞は乳癌細胞として計測対象と判断し、HER2シグナル2、CEP17シグナル2とカウントする
 ④ 4の細胞は乳癌細胞として計測対象と判断し、HER2シグナル2、CEP17シグナル0とカウントする
 ⑤ 5の細胞は乳癌細胞として計測対象と判断し、HER2シグナル5、CEP17シグナル5とカウントする

回答(院内実施)	回答数	割合(%)
----------	-----	-------

③3の細胞は乳癌細胞として
計測対象と判断し、HER2 シ
グナル 2、CEP17 シグナル 2
とカウントする

回答(院内未実施)	回答数	割合(%)
-----------	-----	-------

③3の細胞は乳癌細胞として
計測対象と判断し、HER2 シ
グナル 2、CEP17 シグナル 2
とカウントする

【正解】 ③

- ① ④1と4の細胞は、それぞれシグナルが1色のみしか見られないため、計測の対象細胞としない。各々の色について、それぞれ1個以上のFISHシグナルを持つ核のみを記録する。
 ② 2の細胞は、紡錘形の核形を呈しており、間質細胞の可能性が高く計測の対象細胞としない。
 ⑤ 5の細胞は、核が重なり合っていてすべての核のエリアが見えておらず、いくつかのシグナルは重なり合ったエリアの中にあるため、計測の対象細胞としない。
 よって、正しいものは③である。

3) 設問6

HER2 FISH標本について、測定者Aが20個の癌細胞のシグナルを測定した結果、HER2/CEP17比が1.9であった。どのように対応するのが最も適切か。なお、臨床へ最終報告は、病理医による確認および承認の上、実施するものとする。

- ① 同一ブロックからHER2 FISH標本を再作製し、測定者Aが20個の癌細胞のシグナルを計測しHER2/CEP17比を算出した
 ② 同一ブロックからHER2 FISH標本を再作製し、測定者Bが20個の癌細胞のシグナルを計測しHER2/CEP17比を算出した

- ③ 測定者 A もしくは B が同一標本で、再度20個の癌細胞のシグナルを計測して2回目の結果のみで HER2/CEP17比を算出した
- ④ 測定者 A もしくは B が同一標本で、新たに20個の癌細胞を計測し、1回目と2回目の合計40個の核のシグナル数から再度HER2/CEP17比を算出した
- ⑤ この検体では判定保留とし、別の検体を採取するように臨床医に依頼した

回答(院内実施)	回答数	割合(%)
④測定者 A もしくは B が同一標本で、新たに 20 個の癌細胞を計測し、1 回目と 2 回目の合計 40 個の核のシグナル数から再度 HER2/CEP17 比を算出した	11	91.7
③測定者 A もしくは B が同一標本で、再度 20 個の癌細胞のシグナルを計測して 2 回目の結果のみで HER2/CEP17 比を算出した	1	8.3
回答(院内未実施)	回答数	割合(%)
④測定者 A もしくは B が同一標本で、新たに 20 個の癌細胞を計測し、1 回目と 2 回目の合計 40 個の核のシグナル数から再度 HER2/CEP17 比を算出した	6	85.7
①同一ブロックから HER2 FISH 標本を再作製し、測定者 A が 20 個の癌細胞のシグナルを計測し HER2/CEP17 比を算出した	1	14.3

【正解】 ④

パスビジョン® HER-2 DNAプローブキット添付文書には、HER2とCEP17のシグナル比がカットオフ値付近の値(1.8～2.2)の場合は、新たに20個の核を計測して、合計40個の核のシグナル数から再度比を算出すること、と記載がある。

カットオフ値付近であった場合は、同一の標本で再度観察してカウントする。1回目と2回目の計測結果から、

再度算出することが望ましい。

よって、最も適切な回答は④である。

4) 設問 7

図2(巻頭フォト：画像2)のHER2 FISH写真のように、HER2シグナルの蛍光強度が非常に弱いFISH標本が作製された。原因として考えられるものとして、誤っているものを選んでください。

[Spectrum Orange(オレンジ色)：HER2、Spectrum Green(グリーン色)：CEP17]

- ① ハイブリダイゼーションの温度や時間が適切でない
- ② ポストハイブリダイゼーション洗浄温度や時間が適切でない
- ③ プロテアーゼ消化が不十分である
- ④ 検体が過剰に固定されている
- ⑤ 薄切切片が薄すぎる

回答(院内実施)	回答数	割合(%)
⑤薄切切片が薄すぎる	9	75.0
②ポストハイブリダイゼーション洗浄温度や時間が適切でない	1	8.3
③プロテアーゼ消化が不十分である	1	8.3
④検体が過剰に固定されている	1	8.3
回答(院内未実施)	回答数	割合(%)
⑤薄切切片が薄すぎる	6	85.7
②ポストハイブリダイゼーション洗浄温度や時間が適切でない	1	14.3

【正解】 ⑤

⑤薄切切片が薄すぎると、HER2シグナルとCEP17シグナルがともに数が少なくなるが、HER2シグナルの蛍光強度だけが弱くなることはない。よって、⑤は誤りである。

一方で、もともとLSIプローブであるHER2シグナルはCEP17シグナルよりも小型であるため、①～④の場合には影響を受けやすく、HER2シグナルの蛍光強度が非常に弱く見えることがある。

3. HER2 FISHフォトサーベイ

院内実施施設のみ評価対象：設問8～10
(シグナル数値は評価対象外)

1) 設問 8

図3(巻頭フォト：画像3)のFISH標本における○で囲った癌細胞で、HER2遺伝子増幅の有無を判定して下さい。
また、平均HER2コピー数、平均CEP17コピー数、HER2/CEP17比を算出して下さい。
[Spectrum Orange(オレンジ色)：HER2、Spectrum Green(グリーン色)：CEP17]

回答(院内実施)	回答数	割合(%)
①HER2 遺伝子増幅陰性	12	100.0

回答(院内未実施)	回答数	割合(%)
①HER2 遺伝子増幅陰性	7	100.0

平均 HER2 コピー数	平均 CEP17 コピー数	HER2/CEP17 比
1.8	1.6	1.1
1.9	1.7	1.2
1.8	1.7	1.1
1.8	1.6	1.1
1.8	1.7	1.1
1.85 (37)	1.7 (34)	1.09
1.8	1.7	1.1
1.9	1.7	1.12
1.9	1.7	1.1
1.8 (36)	1.6 (32)	1.13
1.85	1.3	1.4
1.85	1.7	1.09

平均 HER2 コピー数	平均 CEP17 コピー数	HER2/CEP17 比
1.9	1.7	1.2
1.8	1.7	1.1
1.8	1.6	1.1
1.9	1.6	1.2
1.8	1.8	1.0
1.85	1.65	1.13
1.7 (34)	1.65 (33)	1.0

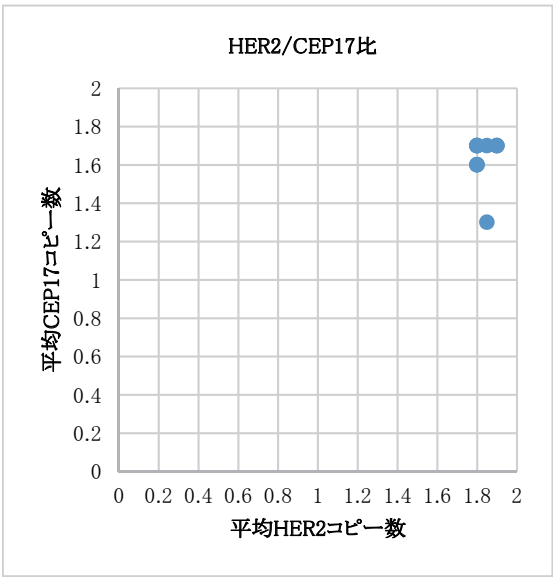


図 1：設問 8 シグナル数値グラフ

【正解】 ① HER2遺伝子増幅陰性

図3(巻頭フォト：画像3)で示した細胞は、HER2シグナルとCEP17シグナルのどちらも2コピー程度で、HER2遺伝子増幅は陰性である。
各施設の平均HER2コピー数、平均CEP17コピー数、およびHER2/CEP17比の回答を上記の表とグラフ(図1)に示した。(なお、平均HER2コピー数および平均CEP17コピー数で合計数と思われた回答については、“回答／細胞数20”で算出した数値を平均コピー数とした。)
平均HER2コピー数、平均CEP17コピー数ともに各施設の回答に大きな差はなく、HER2/CEP17比も同程度の数値であった。また、判定結果はすべての施設でHER2遺伝子増幅陰性であった。

2) 設問 9

図4(巻頭フォト：画像4)のFISH標本における○で囲った癌細胞で、HER2遺伝子増幅の有無を判定して下さい。
また、平均HER2コピー数、平均CEP17コピー数、HER2/CEP17比を算出して下さい。(判定は評価対象、数値は評価対象外)
[Spectrum Orange(オレンジ色)：HER2、Spectrum Green(グリーン色)：CEP17]

回答(院内実施)	回答数	割合(%)
②HER2 遺伝子増幅陽性	12	100.0

回答(院内未実施)	回答数	割合(%)
②HER2 遺伝子増幅陽性	7	100.0

設問9：シグナル数値回答(院内実施施設)

平均 HER2 コピー数	平均 CEP17 コピー数	HER2/CEP17 比
5.7	2.3	2.5
9.7	2.8	3.5
7.7	2.3	3.3
7.3	2.1	3.5
6.7	2.5	2.7
6.45 (129)	2.2 (44)	2.93
11.0	2.5	4.5
9.9	2.4	4.21
6.4	2.4	2.7
8.45 (169)	2.65 (53)	3.19
5	2.15	2.3
6.45	2.55	2.52

設問9：シグナル数値回答(院内未実施施設)

平均 HER2 コピー数	平均 CEP17 コピー数	HER2/CEP17 比
5.3	2.2	2.4
6.4	2.6	2.4
4.2	1.3	1.8
7.35	2.25	3.7
6	2	3
8.1	2.05	3.95
7 (140)	2 (40)	3.5

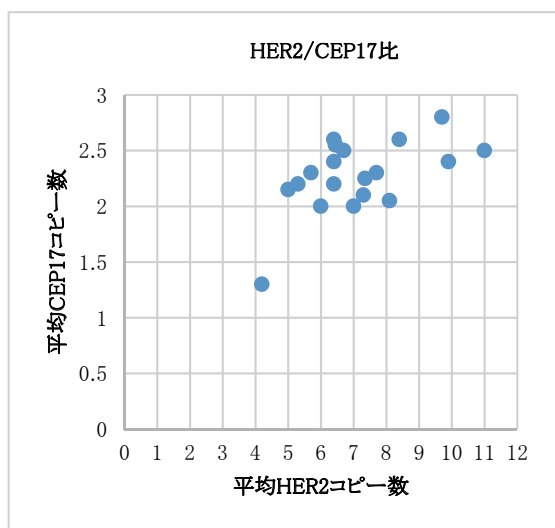


図2：設問9シグナル数値グラフ

【正解】 ② HER2遺伝子増幅陽性

図4(巻頭フォト：画像4)で示した細胞は、CEP17シグナルが2コピー程度でHER2シグナルは4コピー以上の細胞であり、HER2遺伝子増幅陽性である。

各施設の回答を設問8と同様に上記の表とグラフ(図2)に示した。(また、設問8と同様に合計数と思われた回答は“回答/細胞数20”で算出した数値を平均コピー数とした。)

平均HER2コピー数の回答は5～10コピーが多く、平均CEP17コピー数の回答は2～3コピー付近がほとんどであった。平均HER2コピー数の回答はばらつきがあり、重なったシグナルの数え方に対し、施設ごとに若干の違いがあるためと考えられる。HER2/CEP17比の回答は2.2以上がほとんどであり、判定はすべての施設でHER2遺伝子増幅陽性であった。

3) 設問10

図5(巻頭フォト：画像5)のFISH標本における○で囲った癌細胞で、HER2遺伝子増幅の有無を判定して下さい。

また、平均HER2コピー数、平均CEP17コピー数、HER2/CEP17比を算出して下さい。(判定は評価対象、数値は評価対象外)

[Spectrum Orange(オレンジ色)：HER2、Spectrum Green(グリーン色)：CEP17]

回答(院内実施)	回答数	割合(%)
②HER2 遺伝子増幅陽性	12	100.0

回答(院内未実施)	回答数	割合(%)
②HER2 遺伝子増幅陽性	7	100.0

設問10：シグナル数値回答(院内実施施設)

平均 HER2 コピー数	平均 CEP17 コピー数	HER2/CEP17 比
10.5	2.6	4.0
19.5	2.8	7.1
15.1	2.7	5.6
14.1	2.6	5.5
11.2	1.6	7.2
10.5 (201)	2.6 (52)	3.87
19.7	2.6	7.6
23.1	2.6	8.89
10.2	2.7	3.8
10 (200)	2.65 (53)	3.77
9	2.6	3.5
10.7	2.65	4.04

設問10：シグナル数値回答(院内未実施施設)

平均 HER2 コピー数	平均 CEP17 コピー数	HER2/CEP17 比
13.5	2.6	5.1
9.9	2.7	3.7
4.3	0.5	8.6
18.8	2.7	7
30	2.75	10.9
8.75	3.5	2.5
17 (340)	2.5 (50)	6.8

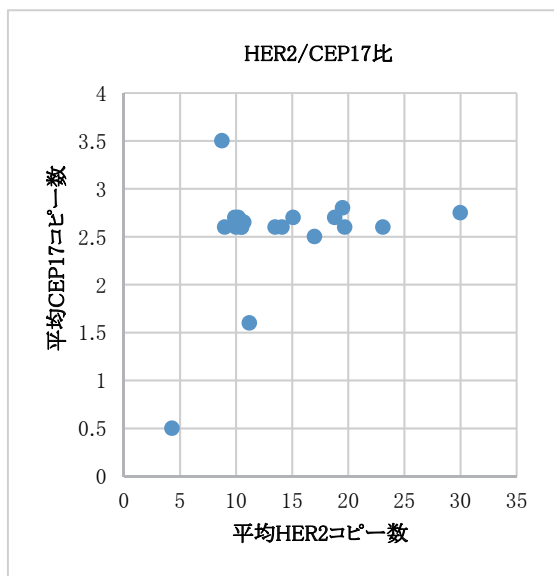


図3：設問10シグナル数値グラフ

【正解】 ② HER2遺伝子増幅陽性

図5(巻頭フォト：画像5)で示した細胞は、CEP17シグナルが2～4コピー程度でHER2シグナルは10コピー以上の一塊になっている細胞であり、HER2遺伝子増幅陽性である。

各施設の回答を設問8、9と同様に、上記の表とグラフ(図3)に示した。(設問8、9と同様に合計数と思われた回答は“回答／細胞数20”で算出した数値を平均コピー数とした。)

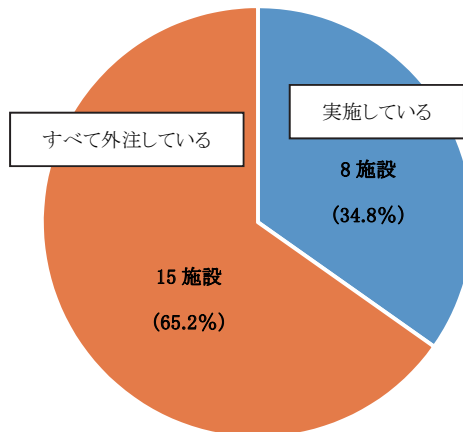
平均HER2コピー数は10～20コピーの回答が多く、平均CEP17コピー数の回答は2～3コピー付近であった。平均HER2コピー数の回答は±10以上と大きくばらつきがあり、シグナルが一塊のためカウント数としての捉え方がさまざまであったことが伺えた。HER2/CEP17比の回答は全施設が2.5以上で、最大は10.9であり、こちらもばらつきが見られた。判定は、すべての施設でHER2遺伝子増幅陽性であった。

4. アンケート調査結果

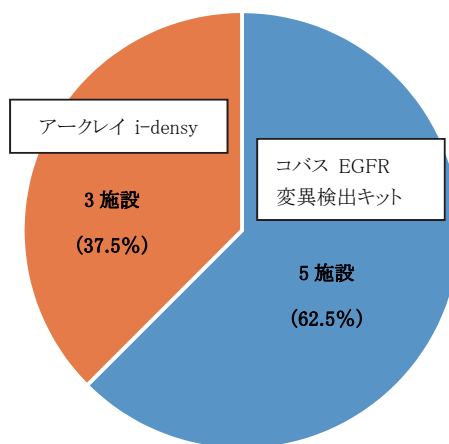
各施設の遺伝子検査の実施状況および精度管理の取り組みについて、アンケート調査を実施した。

1)-1 体細胞遺伝子検査の実施状況について、教えてください。

(1) 自施設でEGFR遺伝子検査を実施していますか。



(2) 自施設でEGFR遺伝子検査を実施しているご施設で、使用しているキット名または検査法を教えてください。



(3) その他に自施設で実施している体細胞遺伝子検査がありましたら、関連のものをお答えください。(複数回答可)

回答	施設数
軟部腫瘍関連	4
リンパ節関連	4
白血病関連	3
脳腫瘍	1
悪性中皮腫	1
RAS/BRAF	1
MSI	1
KRAS	1
ALK	1
UGT1A1	1

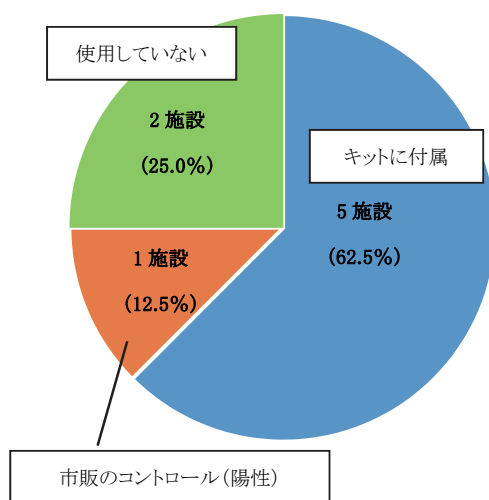
EGFR遺伝子検査を実施している施設は、23施設のうち8施設であった。使用しているキットは、「コバスEGFR変異検出キット」と「アークレイ i-densy」の2種類であった。

その他の遺伝子検査(表20)を実施している施設は6施設で、そのうち5施設がEGFR遺伝子検査を実施している施設であった。

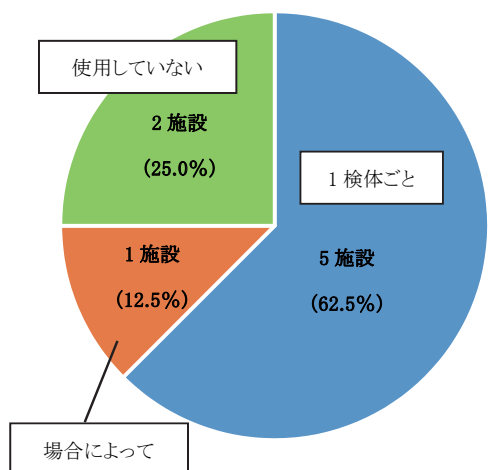
体細胞遺伝子検査において、EGRR遺伝子検査はその他の検査に比べて普及率が高かった。

1)-2 自施設でEGFR遺伝子検査を実施している施設にお聞きします。

(1) EGFR遺伝子検査について、標準物質を使用していますか。(複数回答可)



(2) 標準物質の使用頻度について、教えてください。



院内でEGFR遺伝子検査を実施している施設の精度管理状況について調査を行った。「コバスEGFR変異検出キット」を使用している5施設は付属のコントロールを使用しており、「アークレイ i-densy」を使用している3施設のうち1施設が市販の陽性コントロールを使用していた。

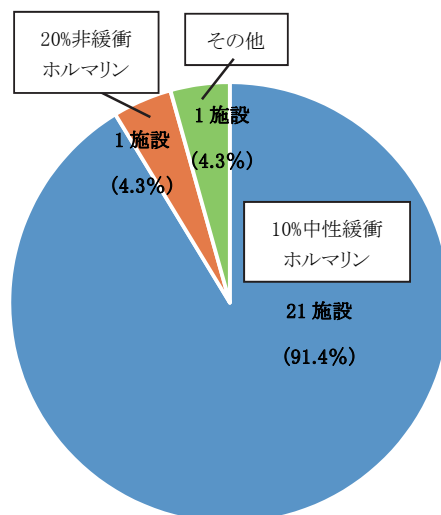
使用頻度については、「コバスEGFR変異検出キッ

ト」を使用している施設では1検体(1測定)ごとに使用しており、「アークレイ i-densy」の1施設は場合によって使用しているという回答であった。

1)-3 全施設にお聞きします。

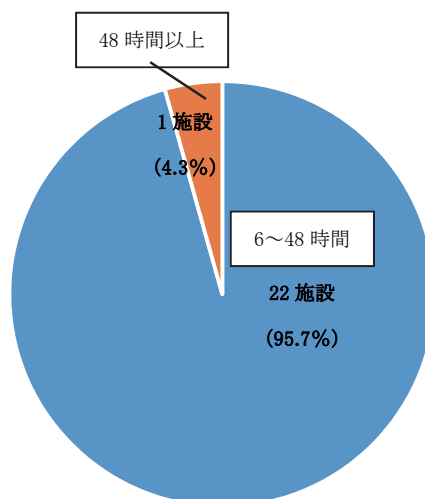
固定条件について、教えてください。

(1) 遺伝子検査の検体で、使用している固定液を教えてください。

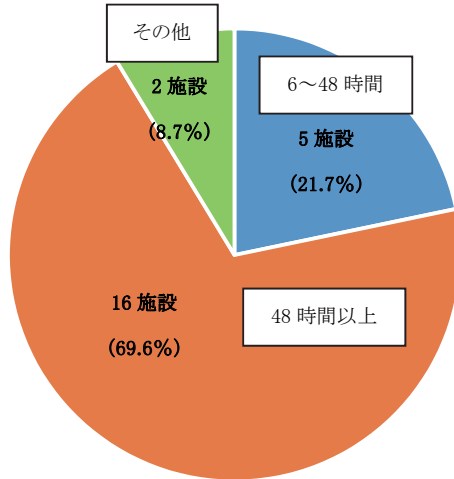


(2) 手術材料の遺伝子検査検体の固定時間を教えてください。

① 月～木曜日(平日)に提出された検体

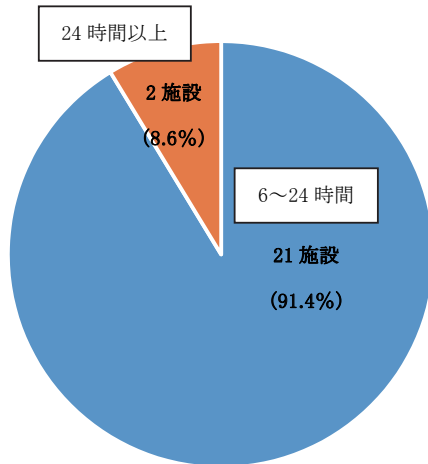


② 金曜日（週末）に提出された検体

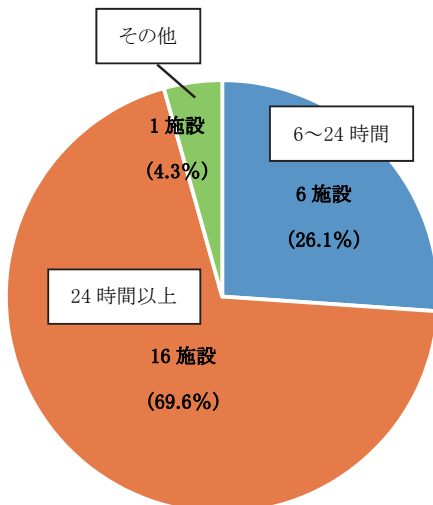


(3) 生検材料の遺伝子検査検体の固定時間を教えてください。

① 月～木曜日（平日）に提出された検体



② 金曜日（週末）に提出された検体



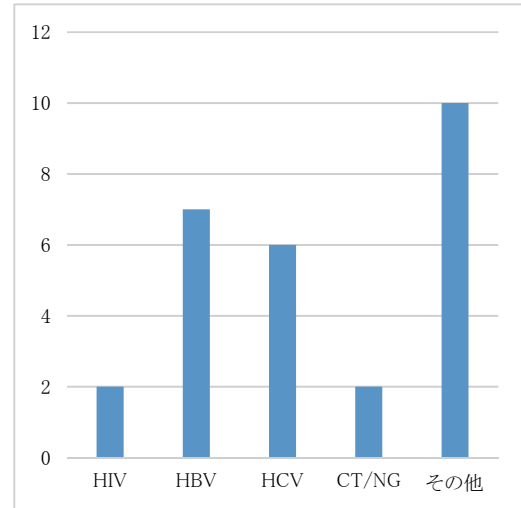
使用している固定液は、23施設のうち21施設で、推奨とされている10%中性緩衝ホルマリンを使用していた。
固定時間は、平日では手術材料、生検材料でそれぞれ

推奨とされている6～48時間、6～24時間で実施している施設が大多数であった。週末では、それぞれの材料で推奨時間以上の固定時間である施設が多かった。また、その他の回答は72時間未満、週末は大きい手術がない、との回答であった。

2) 病原体関連遺伝子検査の実施状況について

(1) 自施設で遺伝子検査を実施している項目を教えてください。（複数回答可）

※抗酸菌関連遺伝子検査は昨年調査済みのため除きます。



※CT/NG：クラミジアトラコマティス／淋菌

その他回答	施設数
マイコプラズマ核酸定性検査	4
百日咳菌核酸定性検査	1
レジオネラ菌核酸定性検査	2
C.difficile	2
mecA	1
SARS-CoV-2	6

(2) 実施している遺伝子検査について、使用しているキット名または検査法を教えてください。（複数回答可）

① HIV-1核酸定量検査

キット名	施設数
コバス 6800/8800 システム HIV-1	1
コバス TaqMan HIV-1 「オート」	1

② HBV核酸定量検査

キット名	施設数
コバス 6800/8800 システム HBV	1
コバス TaqMan HBV	6

③ HCV核酸定量検査

キット名	施設数
コバス 6800/8800 システム HCV	1
コバス TaqMan HCV 「オート」	5

④ クラミジアトラコマティス／淋菌核酸同定検査

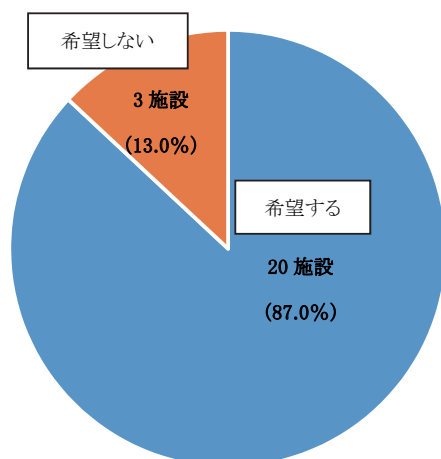
キット名	施設数
コバス 4800 システム CT／NG	1
クラミジア／淋菌 rRNA 検出試薬	1
TRCReady CT／NG	

院内で実施している病原体関連遺伝子検査は、抗酸菌関連を除いてHBV核酸定量検査が最も多く、7施設であった。HCV核酸定量検査を実施している6施設はすべてHBV検査も実施しており、HIV-1核酸定量検査を実施している1施設と、クラミジアトラコマティス／淋菌核酸同定検査を実施している2施設は、それぞれ別の施設であった。

使用しているキットは、それぞれ「コバス6800/8800 システム」を使用している1施設ではHIV-1、HBV、HCV検査を実施しており、他のHBV、HCV検査を実施している施設はすべて「コバス TaqMan」を使用していた。

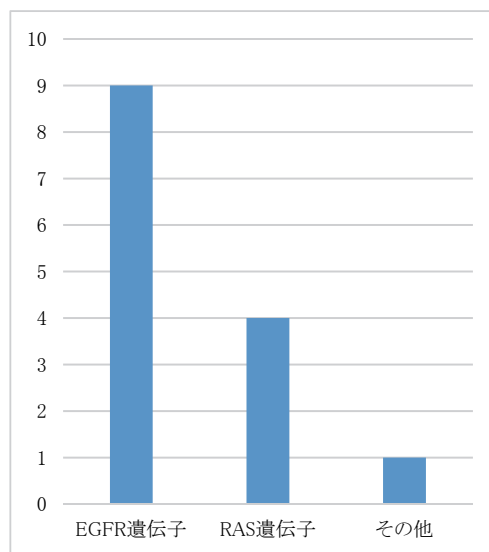
3) 遺伝子検査の精度管理調査について、ご意見をお聞かせください。

(1) 来年度の精度管理調査で、コントロールDNAまたはRNAを用いたサンプルサーベイの実施を予定しています。参加を希望しますか。

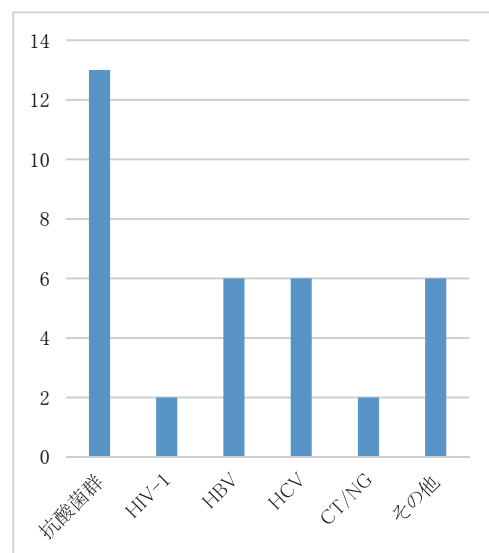


(2) DNA・RNAを用いた精度管理調査で、希望する検査項目を教えてください。(複数回答可)

① 体細胞遺伝子検査

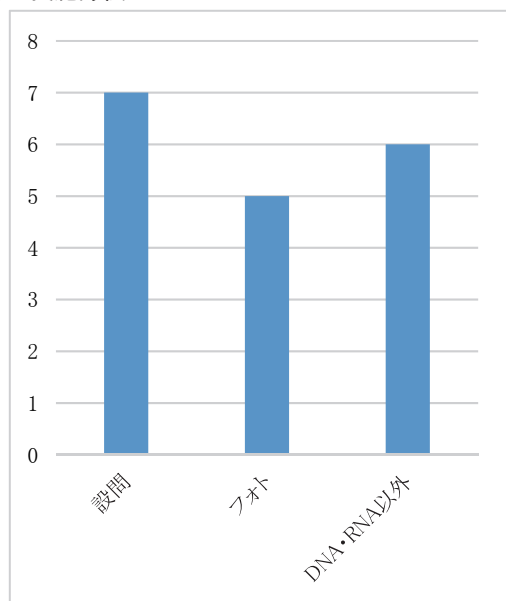


② 病原体関連遺伝子検査



(3) その他に希望する検査項目、実施方法がございましたら、教えてください。(複数回答可)

① 実施方法



② ①で希望する検査項目

回答	施設数
遺伝子検査の基礎	1
パネル検査の基礎知識など	1
HER2 FISH	1
全項目	1

回答	施設数
FISH	1
転座や欠失などの FISH 検査	1
HER2 FISH	1
RAS	1

回答	施設数
EGFR 遺伝子変異検査用標本	2
RAS	1
FISH の染色、判定	2

DNA・RNAを使用したサーベ이의希望は、23施設のうち20施設と高かった。希望の多い項目は、体細胞遺伝子検査ではEGFR遺伝子検査が9施設、病原体関連遺伝子検査では結核菌群遺伝子検査が13施設であった。その他の回答は、未実施のため希望しない、SARS-CoV-2遺伝子検査であった。

設問、フォトを使用したサーベ이의希望は、それぞれ遺伝子検査の基礎、パネル検査、FISHなどであった。DNA・RNA以外のサンプルのサーベイ希望は、FISHやEGFR遺伝子などの標本を使用したものなどであった。

今後、比較的希望の多かった項目について試料を用いたサーベイを実施するとともに、今回の調査を踏まえて設問とフォトのサーベイも引き続き実施していきたいと考える。

VIII. まとめ

遺伝子・染色体検査部門の精度管理事業として、HER2 FISH検査に関する文章設問による知識調査およびFISH画像を用いたフォトサーベイを行った。HER2 FISH検査を院内で実施している施設と、すべて外注している施設でそれぞれ評価対象を分けて実施し、院内実施施設からは12施設、院内未実施施設からは11施設の回答を得られた。

院内実施施設では、全施設評価対象である設問1～3の正解率はすべて100%であった。院内実施施設のみ評価対象の設問4～7のうち設問4～6はそれぞれ良好な正解率(90%以上、不正解1施設以下)であり、設問7は正解率75.0%(不正解3施設)と他の設問と比較して低かった。設問7はトラブルシューティングに関する設問であり、キットの添付文書等には対処法として記載されているが、日常の検査において添付文書を確認する機会は少ないことが伺えた。なお、不正解となった回答はそれぞれ異なる選択肢であり、回答に偏りは見られなかった。

院内未実施施設では、評価対象の設問1～3の正解率はすべて90%以上でそれぞれ良好な正解率であった。評価対象外である設問4～7については6施設から回答があり、正解率はそれぞれ85%以上(不正解1施設以下)であった。

フォトサーベイとして出題した設問8～10では、HER2遺伝子増幅の陰性／陽性の判定は回答のあったすべての施設が正解であった。判定に至るシグナル数値の回答は、特にHER2遺伝子増幅陽性である設問9、10では数値にばらつきが見られた。数が多いシグナルは重なって見えることが多く、一塊となっているシグナルの数え方が施設ごとに違いがあることが伺えた。今後、シグナルの数え方やカウントする細胞の選別などについての調査も実施していきたいと考える。

遺伝子検査の実施状況についてアンケート調査を行った。体細胞遺伝子検査はEGFR遺伝子検査が多く、抗酸菌関連を除く病原体関連遺伝子検査はHBV遺伝子検査が多かった。

また精度管理調査への希望は、結核菌群、EGFR遺伝子検査のサンプルを用いたサーベ이의希望が比較的多かった。設問、フォトを用いたサーベ이의希望もあり、本年度に引き続き実施していきたいと考える。

共通アンケートで実施したSARS-CoV-2遺伝子検査の調査では、実施数、サーベ이의希望数ともに多かった。来年度、SARS-CoV-2遺伝子検査のサンプルサーベイに取り組んでいく所存である。

IX. 参考文献

1. 一般社団法人 日本病理学会：胃癌・乳癌HER2
病理診断ガイドライン，金原出版，2021
2. 一般社団法人 日本病理学会：HER2検査ガイド乳
癌編第4版，2014
3. パスビジョン® HER-2 DNAプローブキット添付文
書 第8版
4. 一般社団法人 日本乳癌学会：乳癌診療ガイドライ
ン1 治療編，金原出版，2018

X. 問い合わせ先

〒464-0073 愛知県名古屋市千種区高見1丁目3番1号
有限会社 胎児生命科学センター 検査部
鈴木 翔太
TEL:052-715-6356
E-mail:glorious0312@gmail.com