

原 著

# 乳癌 8 症例に関する HER2 の免疫染色におけるモノクロナール抗体 (HER2-MONO) とポリクロナール抗体 (HER2-POLY) の染色態度の比較および HER2 蛍光インサイチューハイブリダイゼーション (HER2-FISH) との相関性の検討

長岡中央総合病院、病理部；臨床検査技師

竹日 健太

目的：乳癌症例における HER2 染色性に関して、一次抗体による有意差を明瞭にし、臨床診断の精度管理を確立する。

方法：乳癌 8 症例に関して、染色用キットの中でニチレイバイオサイエンスの HER2 キット MONO および HER2 キット POLY を各々の特性を比較し HER2 FISH との相関性を比較検討した。

成績：HER2 免疫染色における 2 種類の抗体に関して、8 例中 5 例には有意差は認められなかった。3 例に関しては、FISH 法との相関性において、モノクロナール抗体が有意であった。

結論：HER2 免疫染色に関して、一次抗体としてモノクロナール抗体が有意と判断された。

キーワード：乳癌、HER2、免疫染色 (IHC)、蛍光インサイチューハイブリダイゼーション (FISH)、モノクロナール抗体 (HER2-MONO)、ポリクロナール抗体 (HER2-POLY)、染色性、有意差

## 目 的

HER2 検査では免疫染色によって HER2 蛋白の過剰発現の有無を判定し、FISH 法などによって HER2 遺伝子の増幅の有無を評価する。HER2 IHC では乳癌細胞の細胞膜における染色強度、細胞膜の全周に占める割合、陽性細胞の割合を総合的に評価し、0~3+ のいずれかのスコアを記載する (表 1、2)。HER2 免疫染色 (IHC) は抗 HER2 抗体薬治療の対象症例を適切に選定するうえで極めて重要である。HER2 IHC 用抗体は体外診断用医薬品として 4 メーカー 6 種類が認定されており、高い精度で実施することが求められている。今回、体外診断用医薬品として承認されている染色用キットの中でニチレイバイオサイエンスの HER2 キット MONO および HER2 キット POLY を各々の特性を比較し HER2 FISH との相関性を比較検討した (表 3)。

## 方 法

HER2 FISH において増幅あり、増幅なし、判定不能、境界域と判定された症例に対し HER2 POLY、HER2 MONO による免疫染色を実施し各々の染色態度を比較検討した (表 4)。染色対象として乳癌の単発浸潤癌であり 10% 中性緩衝ホルマリンで 72 時間以内に固定された症例を材料とした。

## 結 果

HER2 FISH で (+) の増幅有と判定された症例において HER2 IHC-MONO、POLY いずれも 3+ の強い染色強度を呈した。POLY は細胞膜、細胞質ともに強い反応がみられたのに対し、MONO は細胞膜のみ強い反応がみられた。ER2 FISH で (-) の増幅無と判定された症例においては HER2 IHC-MONO で 0 を呈したのに対し POLY で 1+ の染色反応がみられた。また同じく HER2 FISH (-) の症例において HER2 -MONO 1+ に対し POLY で 2+ の反応がみられた。Chr 17、HER2 シグナルがまったく観察されなかった判定不能症例では HER2 IHC-MONO は 0、POLY は 2+ と結果に差異が生じた。HER2 FISH において境界域と判定された症例においては HER2 IHC-MONO で 0~1+、POLY で 2+ という染色結果が確認された (表 5)。

## 考 察

今回、HER2 IHC-MONO および POLY の同一症例における染色性の違いについて、HER2 FISH の結果を基に検討した。HER2 FISH で増幅有と判定された症例に関しては両者ともに強い反応を呈したが、増幅無し症例において結果に差異が生じた。また判定不能、境界域症例に関しても異なる染色結果を呈した。MONO は HER2 FISH との相関性があると判定されるのに対し、POLY では増幅有症例においては相関性があるが、増幅無し症例では相関性は得られなかつ

た。現在我が国では、IHC法によりHER2蛋白発現の検査を行い、IHC法スコア3+を治療適応あり、IHCスコア0/1+を原則治療適応なし、IHCスコア2+の場合はFISH法で再検査を行いHER2遺伝子増幅が確認された症例のみを治療適応ありとする施設が多い。当院においては初めからFISH法のみを行い、判定のつかない症例に関してIHC法などで再検査を行う場合がある。HER2 IHC検査は体外診断用医薬品として認可された抗体を用い、推奨されたプロトコルに則り免疫染色を行うことが重要である。今回HER2キットMONOの染色態度は認識部位がECDでありHER2 FISHとの相関性が高く、HER2 FISHとの関連検査法として判定がつかない症例に精度の高い結果が得られると示唆された。

英文抄録

Original article

Immunohistochemical HER2 staining comparison between monoclonal antibody (HER2-MONO) and polyclonal antibody (HER2-POLY) in our eight breast cancer cases and the correlative examination with HER2 fluorescence in situ hybridization (HER2-FISH)

Nagaoka Central General Hospital, Department of pathol-

ogy; Medical technologist  
Kenta Takehi

Objective: About the HER2 immunohistochemical stainability in the breast cancer case, we disclose a significant difference between the primary antibody and the polyclonal one.

Study design: We compared the immunohistochemical stainability between HER2 kit MONO and HER2 kit POLY (Nichirei, Tokyo) for 8 cases of breast cancer 8 cases, and correlated with HER2 FISH results.

Results: About two kinds of antibodies in the HER2 immunostaining, the significant difference was not found in five of eight patients. But about three cases, monoclonal antibody was significantly superior in the correlation with the FISH results.

Conclusion: About HER2 immunostaining, monoclonal antibody was significantly useful rather than polyclonal one as primary antibody.

Key words: breast cancer, HER2, immunohistochemistry (IHC), fluorescence in situ hybridization (FISH), monoclonal antibody (HER2-MONO), polyclonal antibody (HER2-POLY), stainability, significant difference

表1 HER2 IHC 判定基準<乳癌検体>

染色パターン	判定スコア	HER2/neu タンパクの過剰発現の有無
検体組織中の腫瘍細胞の中で HER2/neu 陽性を呈している細胞がない。または 10%に満たないもの。	0	なし
検体組織中の腫瘍細胞の中で HER2/neu 陽性を呈している細胞が 10%以上あるが、腫瘍細胞の一部の膜に局限した弱い染色強度を有するもの。	1+	なし
検体組織中の腫瘍細胞の中で HER2/neu 陽性を呈している細胞が 10%以上あり、腫瘍細胞の膜に局限した中等度の染色強度を有するもの。	2+	あり
検体組織中の腫瘍細胞の中で HER2/neu 陽性を呈している細胞が 10%以上あり、腫瘍細胞の膜に局限した強度の染色強度を有するもの。	3+	あり

乳癌 8 症例に関する HER2 の免疫染色におけるモノクローナル抗体 (HER2-MONO) とポリクローナル抗体 (HER2-POLY) の染色態度の比較および HER2 蛍光インサイチュアハイブリダイゼーション (HER2-FISH) との相関性の検討

表 2 乳癌検体のスコア判定上の注意点

1: 腫瘍細胞の中で細胞膜への陽性染色を有する細胞が 10% 以上か未満か確認する。	
10% 未満	→スコア 0
10% 以上	→スコア 1+~3+
2: 細胞膜への陽性細胞が、一部あるいは完全であるか確認する。	
一部である	→スコア 1+
完全である	→スコア 2+~3+
3: 完全な細胞膜の陽性染色の強度を確認する。	
弱い~中等度	→スコア 2+
強い	→スコア 3+

以上の判定基準により、判定スコア 0 または 1+ は HER2/new タンパク過剰発現なし、判定スコア 2+ または 3+ は HER2/new タンパクの過剰発現があるものとする。

表 3 HER2 MONO と HER2 POLY の特性

HER2		MONO	POLY
抗原認識部位		細胞外ドメイン。 クローン: SV2-61Y	細胞内ドメイン
染色性		細胞膜に特異的 (細胞質の染色が少ない)	細胞膜、細胞質に染色
前処理		酵素処理	熱処理
	<p><b>【MONO】</b> 現在販売されている HER2 の体外診断薬の中で唯一細胞外ドメインを認識する抗体である。染色性が細胞膜に特異的なため、細胞質への染まりが少なく診断が行いやすい。 POLY に比較して 2+ が少なく 0、3+ がはっきりでる傾向が高い。</p> <p><b>【POLY】</b> 世界で多く使われている他社抗体と同じ認識部位である。前処理が熱処理の為、室温等に影響されず染色することが可能。</p>		

表4 検討症例

症例	ホルモンレセプター		HER2FISH		HER2 遺伝子コピー数平均
	ER	PR	HER2/CEP17	判定	
1	2+	2+	5.85	増幅あり	
2	—	—	6.13	増幅あり	
3	2+	2+		判定不能	
4	—	—	3.02	増幅あり	
5	—	—	1.08	増幅なし	
6	2+	1+	1.22	増幅なし	
7	2+	2+	1.29	境界域※	5.05
8	2+	1+	1.70	境界域※	5.20

HER2 増幅幅が 2.00 ≤ の場合(+)と判定。

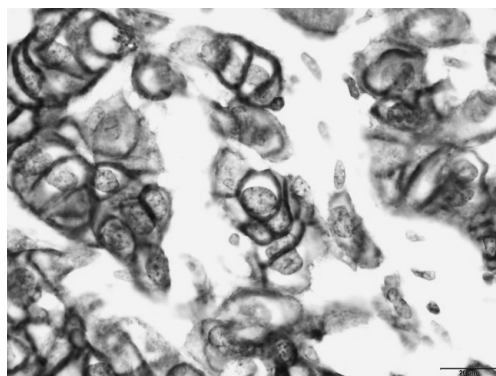
※境界域：HER2/CEP17 比 < 2.0 かつ HER2 遺伝子コピー数の平均が 1 細胞あたり ≥ 4.0 ~ 6.0。

表5 HER2 IHC と HER2 FISH との比較

症例	HER2IHC		HER2FISH
	MONO	POLY	
1	3+	3+	+
2	3+	3+	+
3	0	2+	判定不能
4	3+	3+	+
5	1+	2+	—
6	0	1+	—
7	1+	2+	境界域※
8	0	2+	境界域※

HER2 増幅幅が 2.00 ≤ の場合(+)と判定。

※境界域：HER2/CEP17 比 < 2.0 かつ HER2 遺伝子コピー数の平均が 1 細胞あたり ≥ 4.0 ~ 6.0。



HER2-MONO×400  
細胞膜に強い染色強度が確認される。  
判定スコア 3+

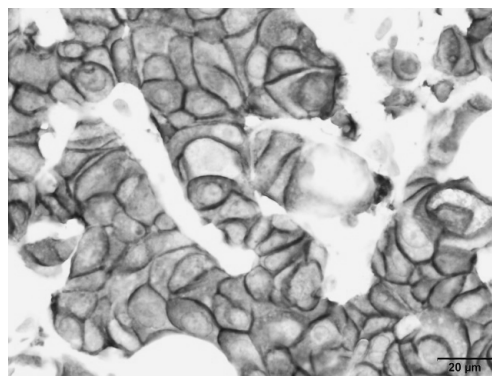
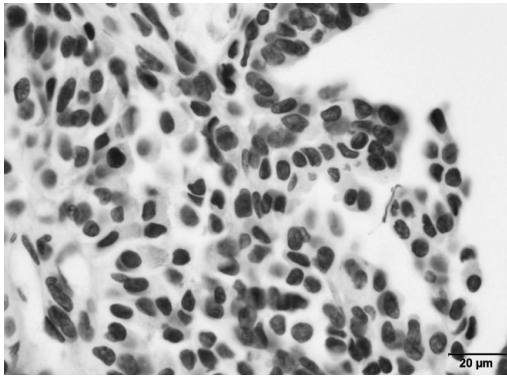
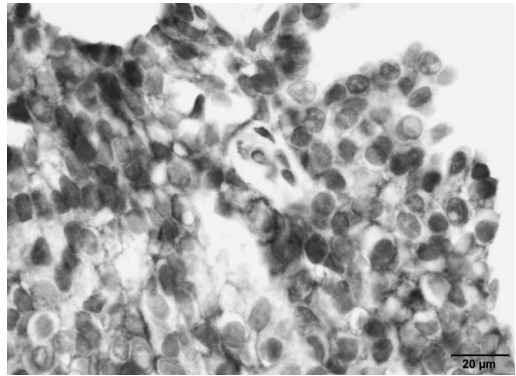


図 症例 2  
HER2-POLY×400  
細胞膜および細胞質に強い染色強度が確認される。  
判定スコア 3+

乳癌 8 症例に関する HER2 の免疫染色におけるモノクローナル抗体 (HER2-MONO) とポリクローナル抗体 (HER2-POLY) の染色態度の比較および HER2 蛍光インサイチュアハイブリダイゼーション (HER2-FISH) との相関性の検討

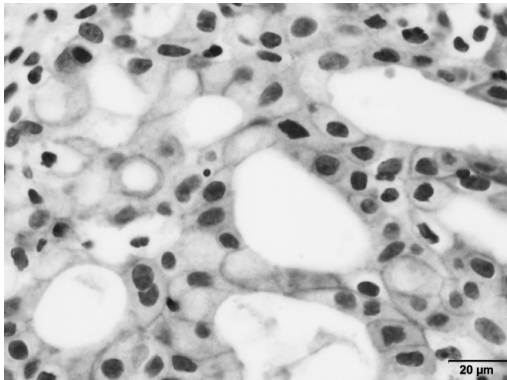


HER2-MONO×400  
腫瘍細胞の中で HER2/new 陽性細胞が (一)。  
判定スコア：0

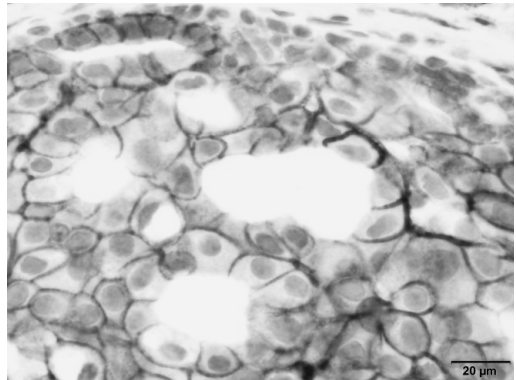


HER2-POLY×400  
細胞膜に中等度の染色強度が確認される。  
判定スコア：2+

図 症例 3

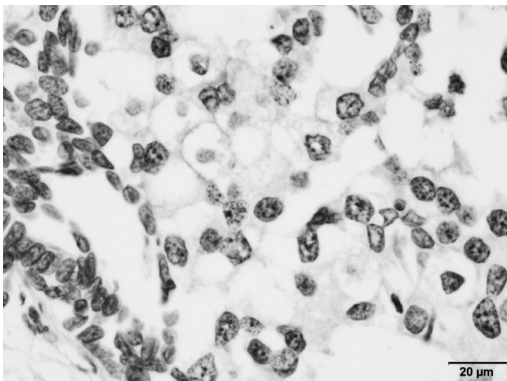


HER2-MONO×400  
腫瘍細胞の一部の膜に限局した弱い染色強度を有する。  
判定スコア：1+

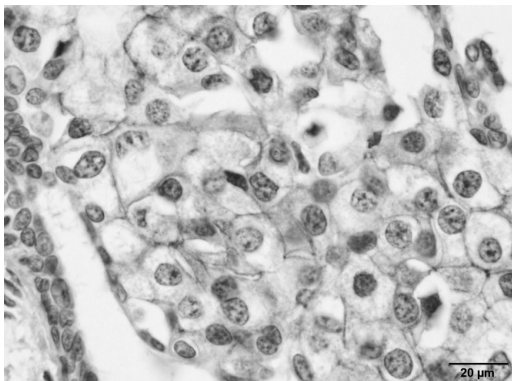


HER2-POLY×400  
細胞膜に中等度～強度の染色強度が確認される。  
判定スコア：2+

図 症例 5



HER2-MONO×400  
腫瘍細胞の中で HER2/new 陽性細胞が10%に満たない。  
判定スコア：0



HER2-POLY×400  
細胞膜に中等度の染色強度が確認される。  
判定スコア：2+

図 症例 7

(2018/02/13受付)