

呼吸器領域における 液状化細胞診の有用性と その応用へ向けて

阿部 香織¹⁾、内田 好明¹⁾、新発田 雅晴¹⁾、古村 祐紀¹⁾

安田 真大¹⁾、小井戸 綾子¹⁾、鎚木 孝之²⁾、清嶋 護之³⁾

朝戸 裕二³⁾、斉藤 仁昭¹⁾、飯嶋 達生¹⁾、井村 穰二⁴⁾

茨城県立中央病院・茨城県地域がんセンター 病理¹⁾、呼吸器内科²⁾、呼吸器外科³⁾
富山大学大学院医学薬学研究部 病理診断学講座⁴⁾



緒言

近年、呼吸器領域における細胞診は、従来の存在診断のみならず、分子標的治療薬の導入など、患者層別化に向けての質的診断の機会も増えてきている。このような背景のもとに、これまでの免疫細胞化学のみならず、様々な分子生物学的手法を積極的に取り入れていく必要性が高まりつつある。

一方で、これまでの細胞診における検体処理に関しては、様々な障害もあり、現状では転用するのが困難であることも問題となっている。それらを解決する一助として液状化細胞診 (Liquid based cytology: LBC) の有用性について検討を行った。



課題・問題点

- 呼吸器領域でLBCを用いること
 - 標本の質と診断精度の向上
 - 乾燥や挫滅の防止
 - 細胞少数症例に対する集細胞効果
 - 分子標的治療薬適応の診断
 - 薬剤の適応決定を目的とした免疫細胞化学
 - 適応の可否を決定する遺伝子変異解析への転用

診断精度の向上と臨床支援



LBCにおける 集細胞効果の検討

- 標本の質と診断精度の向上



材料・方法

1. 材料

2004年1月から2010年10月の間に、CTガイド下経皮的肺生検を行い、組織診断の得られた134症例を評価対象とした



2. 方法

- 標本作製

従来標本 : 擦り合わせ法

LBC標本 : ThinPrep™ (Olympus)

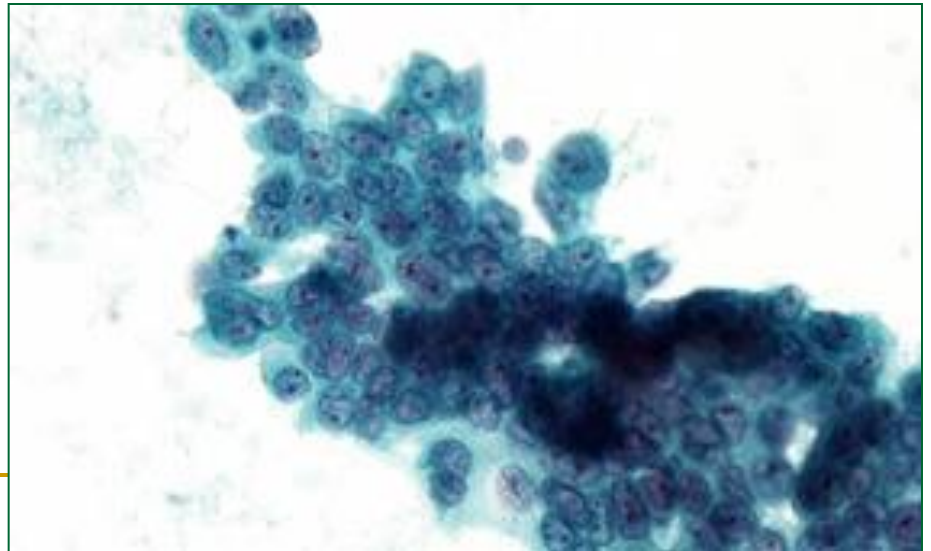
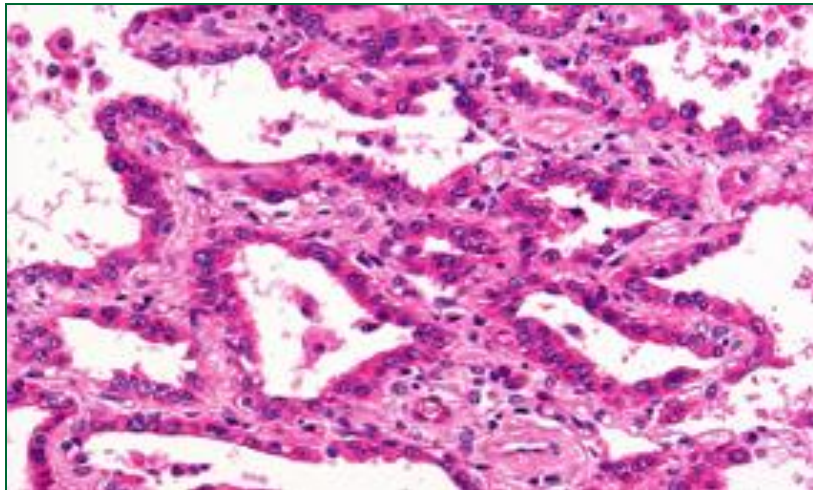
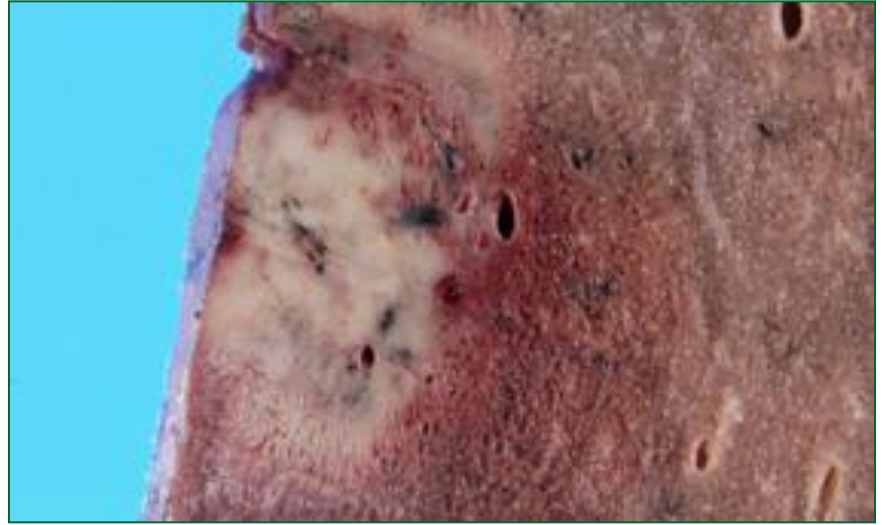
- 評価

感度、特異度、正診率、 χ^2 検定



病例提示

腺癌



擦り合わせとLBCの標本の適否

評 価

LBC

擦り合わせ

判定可能

119 (88.8%)

60 (44.8%)

判定不能

15 (11.2%)

74 (55.2%)

$p < 0.001$

LBCの利点

細胞高回収率 → 判定可能例の増加



結果

方法	感度 (%)	特異度 (%)	正診率 (%)
生検組織診	89.4	87.5	89.3
LBC	<u>82.9</u>	37.5	<u>80.2</u>
擦り合わせ	46.3	25.0	45.0
生検組織診 ＋ LBC	96.7	87.5	96.2



小括

1. 細胞少数症例では、LBCの集細胞効果により、診断精度が向上した
2. LBC法の感度および正診率は生検組織診に匹敵するものであり、両者の併用は、より精度向上をもたらす優れた方法であった



課題・問題点

- 呼吸器領域でLBCを用いること
 - 標本の質と診断精度の向上
 - 乾燥や挫滅の防止
 - 細胞少数症数に対する集細胞効果
 - 分子標的治療薬適応の診断
 - 薬剤の適応決定を目的とした免疫細胞化学
 - 適応の可否を決定する遺伝子変異解析

診断精度の向上と臨床支援



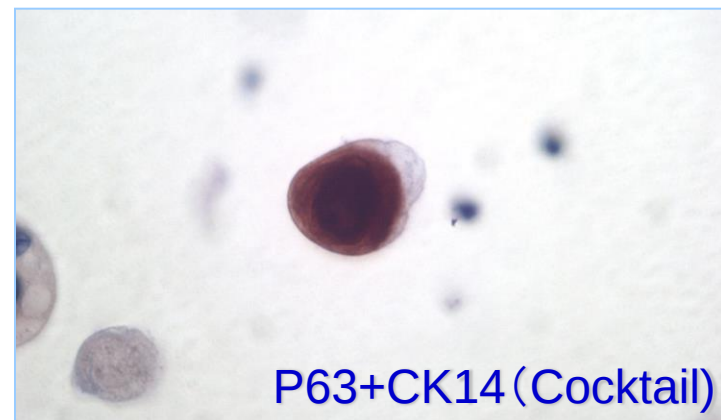
分子標的治療薬

薬剤	標的	適応
ゲフィチニブ（イレッサ）	TKI (EGFR)	非小細胞肺癌
エルロチニブ（タルセバ）	TKI (EGFR)	非小細胞肺癌
クリゾチニブ（ザーコリ）	TKI (ALK,c-MET)	非小細胞肺癌
ベバシズマブ（アバスチン）	mAb (VEGF)	<u>扁平上皮癌を除く</u> 非小細胞肺癌



LBCにおける 免疫細胞化学への応用

- 薬剤の適応決定を目的とした
免疫細胞化学



分子標的治療薬

薬剤	標的	適応
ゲフィチニブ（イレッサ）	TKI (EGFR)	非小細胞肺癌
エルロチニブ（タルセバ）	TKI (EGFR)	非小細胞肺癌
クリゾチニブ（ザーコリ）	TKI (ALK,c-MET)	非小細胞肺癌
ベバシズマブ（アバスチン）	mAb (VEGF)	扁平上皮癌を除く 非小細胞肺癌



LBCにおける 分子生物学的検索への応用

- 適応の可否を決定する遺伝子変異解析



EGFR遺伝子変異解析

1. 材料

EGFR遺伝子変異が確認された症例の気管支洗浄液
および胸水 : 9例

LBC : サイトコレクト液

2. 方法

DNA抽出

DNA micro Kit
(QIAGEN)



Real-time PCR



AmoyDx™ EGFR 29
Mutation Detection Kit



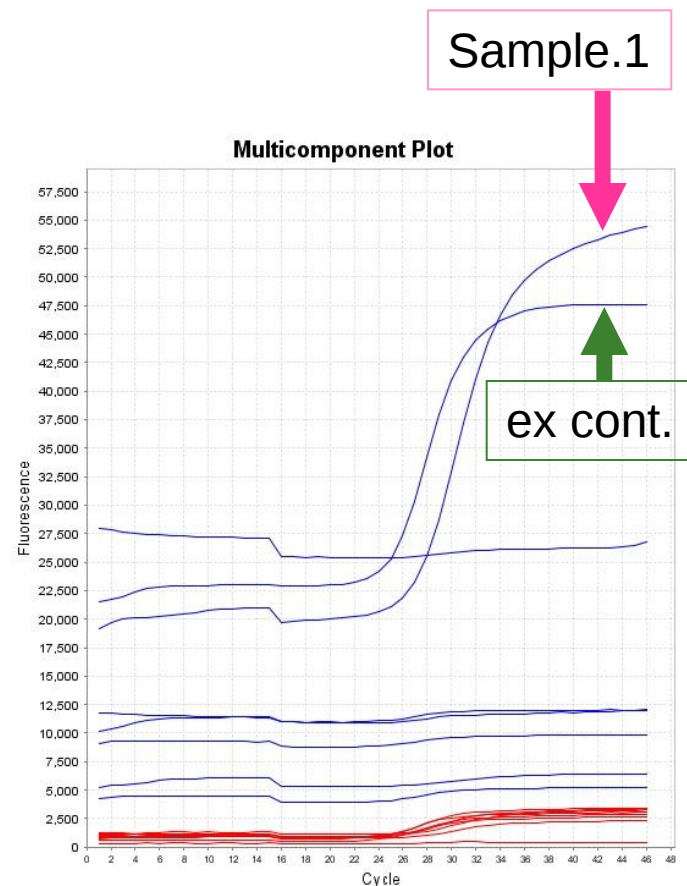
ABI Step ONE

Mutation : ex19del L858R T790M ex20 Insertions G719S/A/C S768I L861Q



結果 —EGFR遺伝子変異解析—

Sapmle	組織標本 (Cycleave法)	LBC検体
1	Ex19 : del	Ex19 : del
2	Ex21 : L858R	Ex21 : L858R
3	Ex21 : L858R	Ex21 : L858R
4	Ex21 : L858R	Ex21 : L858R
5	Ex19 : del	Ex19 : del
6	Ex21 : L858R	Ex21 : L858R
7	Ex21 : L858R	Ex21 : L858R
8	Ex18 : G719	Ex18 : G719
9	変異なし	変異なし



小括(2)

LBCを用いた細胞診検体では、免疫細胞化学
およびEGFR遺伝子変異解析へ応用可能であった



総括

1. 標本作製の標準化のみならず、集細胞効果など標本の質の向上へ繋がった
2. 免疫細胞化学的手法や分子生物学的検索への転用など、患者層別化に繋がり、よりの確な治療選択のためにも、臨床への還元性が極めて高い有用な方法であった
3. 細胞診検体を用いたこれらの検査は標準化やコスト面の課題が残る



まとめ

細胞診検体を用いた検査の幅を広げることで、早期診断や患者の個別化治療など、臨床支援に繋がる。

今後、LBCが広く一般的に利用される環境になることを期待する。

