



シンポジウム：細胞診と遺伝子検査

細胞診検体を用いたEGFR遺伝子変異解析

京都大学医学部附属病院 病理診断科・病理部
白波瀬 浩幸

第46回日本臨床細胞学会近畿連合会学術集会

開催日時：令和3年10月3日（日）

開催場所：奈良県橿原文化会館

第46回日本臨床細胞学会近畿連合会学術集会

COI開示

筆頭演者名： 白波瀬 浩幸

今回の演題に関して開示すべきCOIはありません。

CQ15.

原発性肺癌のバイオマーカー検索に，細胞診検体は有用か？

推奨

原発性肺癌のバイオマーカー検索に適した検体として，細胞診検体を使用することを提案する。

〔推奨の強さ：2，エビデンスの強さ：D，合意率：86%〕

解説（抜粋）

進行肺癌の治療方針決定のためのバイオマーカー検索では，複数のバイオマーカー検査が必要であり，限られた検体を有効利用することが求められる。採取された生検検体が少量であったり，あるいは採取検体が細胞検体のみの場合もあることから，先述の細胞診検体の特性を踏まえたうえで，細胞診検体をバイオマーカー検索に利用することが必要である。

細胞診検体を用いたEGFR遺伝子変異

期間：2017年10月～2021年8月

対象：222例（男性：118例、女性：104例）
非小細胞肺癌のうち非扁平上皮癌例

年齢：30歳～91歳（中央値：71歳）

測定：コバス® EGFR 変異検出キット v2.0

	陽性	陰性	不可	合計	陽性率
気管支洗浄液・擦過洗浄・肺穿刺	60	61	0	121	50%
リンパ節穿刺（縦隔・表在）	19	37	1	57	34%
胸水・心嚢水	19	17	0	36	53%
脳脊髄液	2	2	1	5	50%
その他	3	0	0	3	100%
合計	103	117	2	222	47%

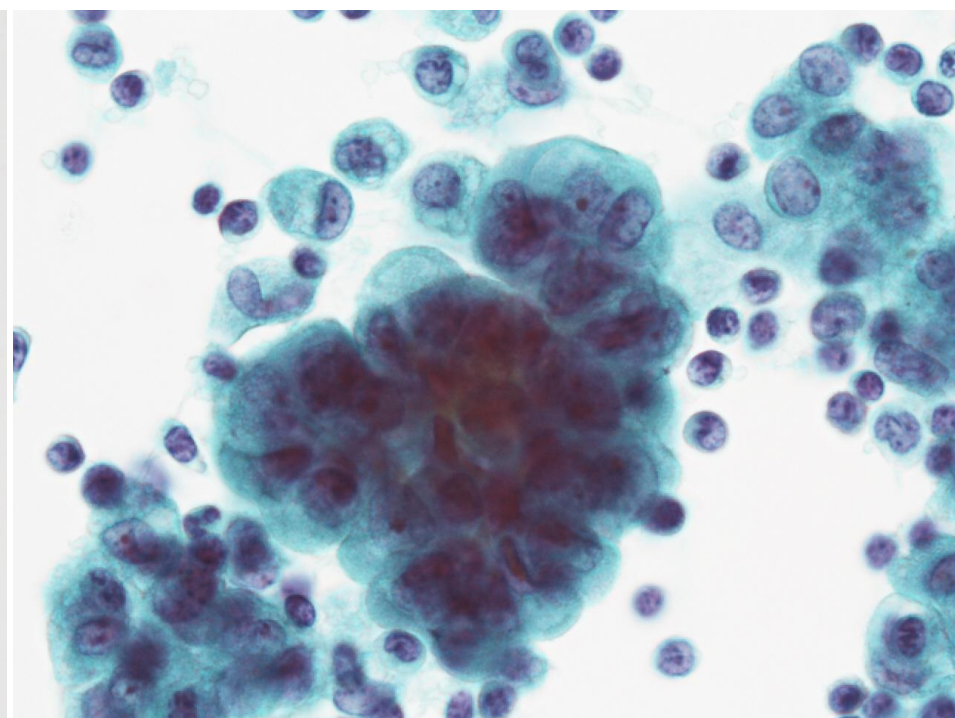
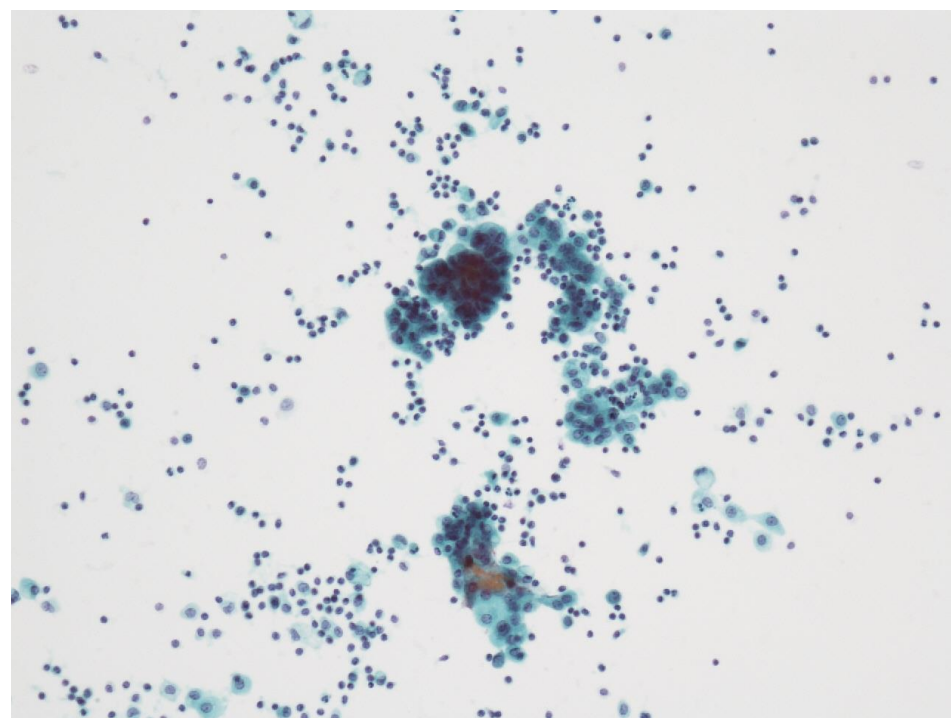
症例（脳脊髄液）

Ex19 del



症例 (胸水)

Ex19 del, Ex20 T790M



細胞診検体の遺伝子検査って、

腫瘍細胞量？

腫瘍細胞率？

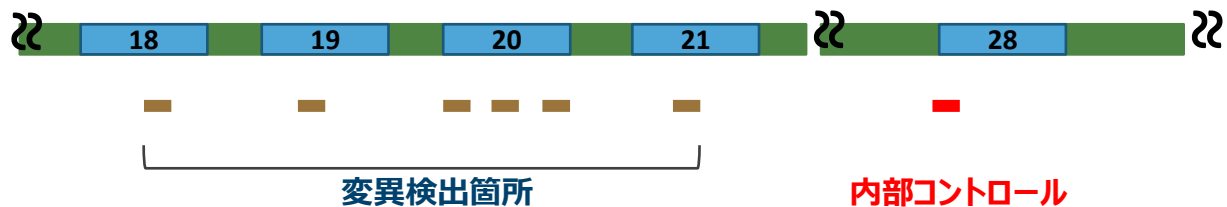
コバス® EGFR変異検出キット

精度管理

内部
コントロール

偽陰性確認（増幅反応阻害）システム

- ・ エクソン28とイントロンを含む部分を内部コントロールとして、各反応で増幅
- ・ 抽出DNAの質、増幅不良をモニター



コバス® EGFR 変異検出キット v2.0 最小検出感度

(2) 最小検出感度

FFPET 検体を用い7種類のEGFR 変異型について変異DNA の割合がおおよそ10%、5 %、2.5%、1.25%となるよう調製した試料を本品 3 ロットを用いて8重測定し、Hit Rate が95%以上を示す変異DNA の最小割合 (%) を検討したところ下表のとりの結果が得られました。なお、測定には2 ng/μL の試料を25μL 使用しました。

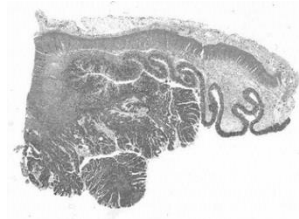
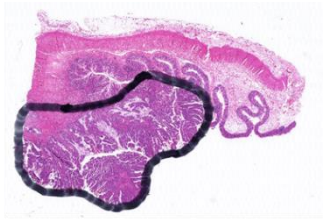
EGFR 変異型	検体 No.	最小検出濃度(検体中の変異の割合) (%)
G719X(G719A)	1	2.46
	2	4.69
	3	4.88
G719X(G719S)	4	3.15
G719X(G719C)	5	5.56
エクソン 19 欠失	6	1.39
	7	2.53
	8	2.37
S768I	9	2.42
	10	1.27
T790M	11	2.04
	12	2.43
	13	3.03
エクソン 20 挿入	14	1.26
	15	1.70
	16	6.81
L858R	17	4.19
	18	4.33
	19	3.96
	20	4.34
	21	5.32
L861Q	22	3.44
	23	2.16
	24	2.12

最小検出感度
(検体中の腫瘍割合)
1.26%~6.81%

操作の流れ

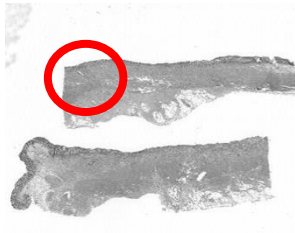
ステップ1.3 -組織の回収-

腫瘍範囲が10%以上の場合



全組織を剃刀で剥ぎ取る

腫瘍範囲が10%未満の場合



マクロダイセクション：
HE染色標本を参考にして、腫瘍範囲を中心とした組織を剃刀で剥ぎ取る



Proteinase Kを分注した
チューブに組織を回収する

ThinPrep残検体を用いた 細胞診検体の 遺伝子検査運用例

ThinPrepバイアルの残検体から遺伝子検査

細胞診



細胞診標本作製後の
ThinPrepバイアル

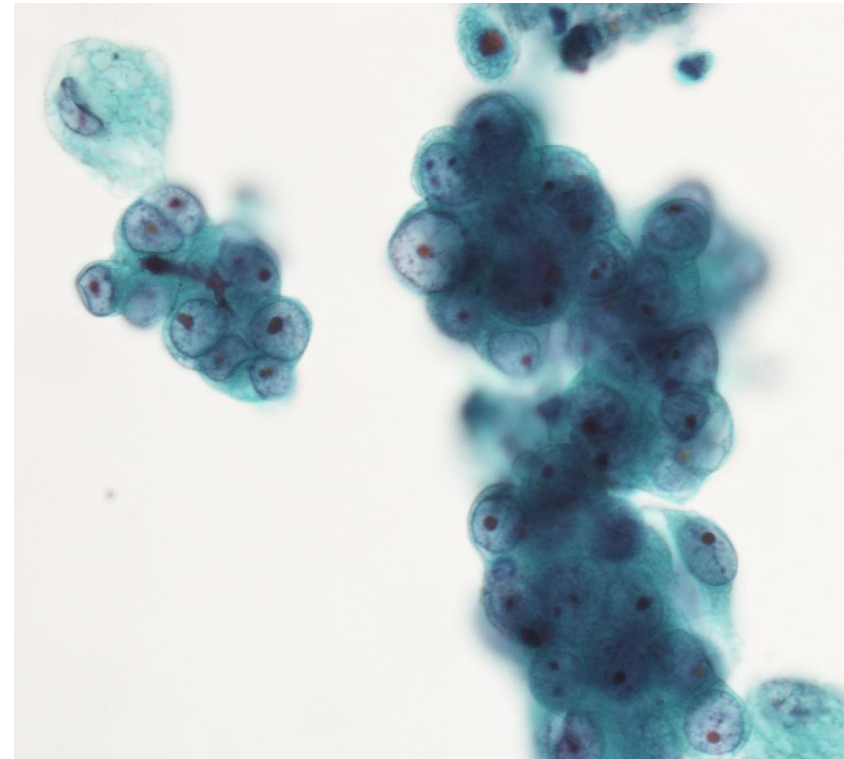
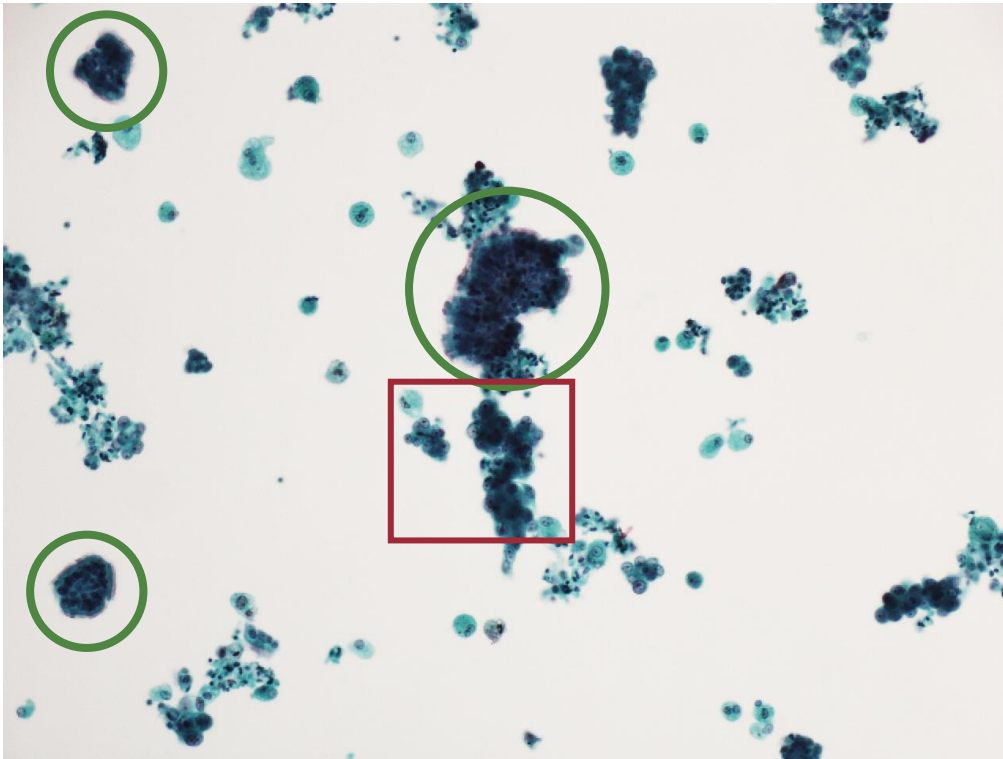


標本作製前はバイアルに半分くらい（20ml）の液量があり、
右画像は標本作製後で、少なくとも10ml以上残っている

仮にスライドガラスに癌細胞が100細胞あり、バイアルに
10ml以上残っていれば100細胞以上の癌細胞がバイアル
に残っていることとなる

症例（気管支擦過・洗浄）

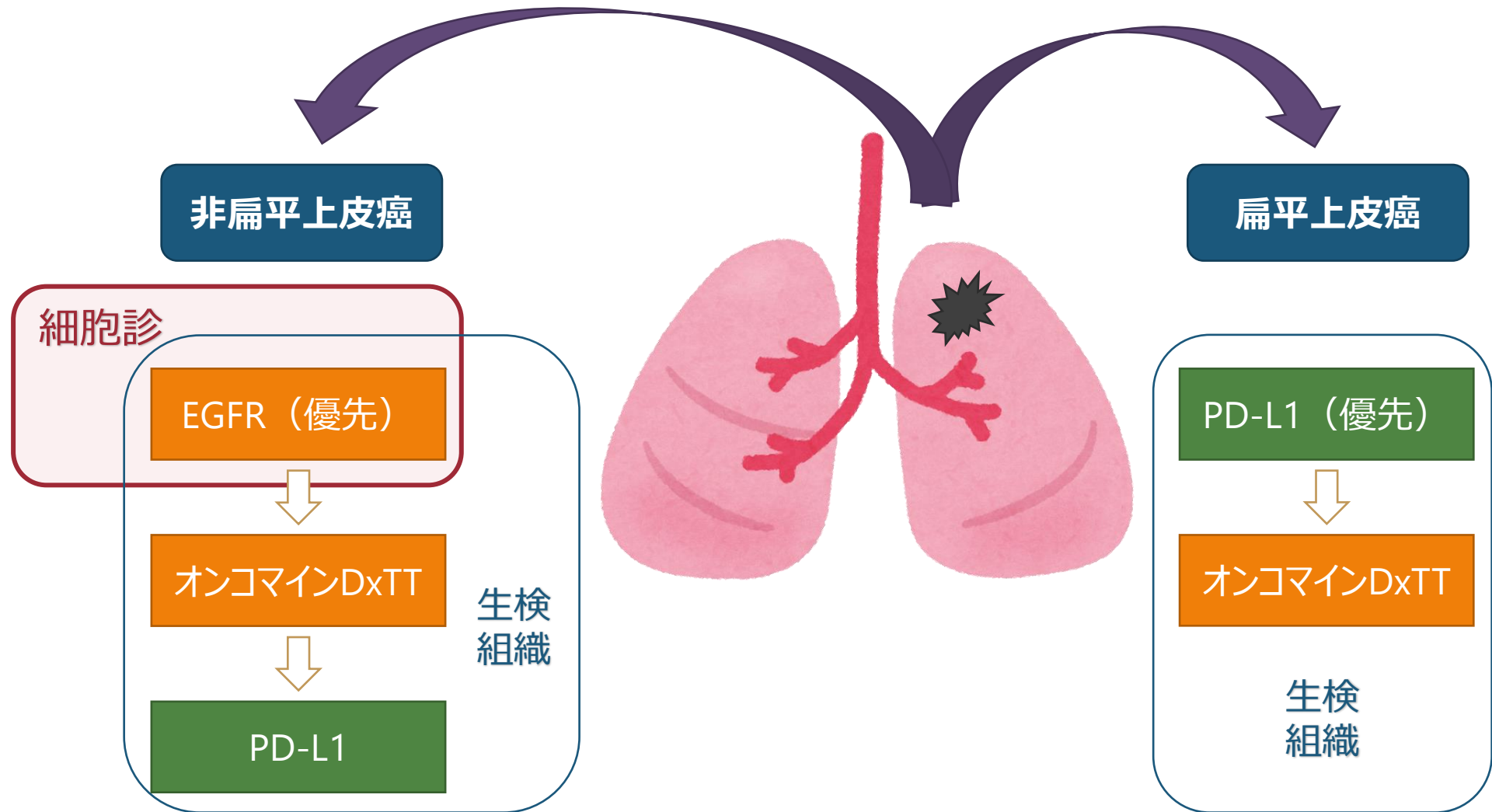
Ex20 Ins



線毛円柱上皮細胞集塊

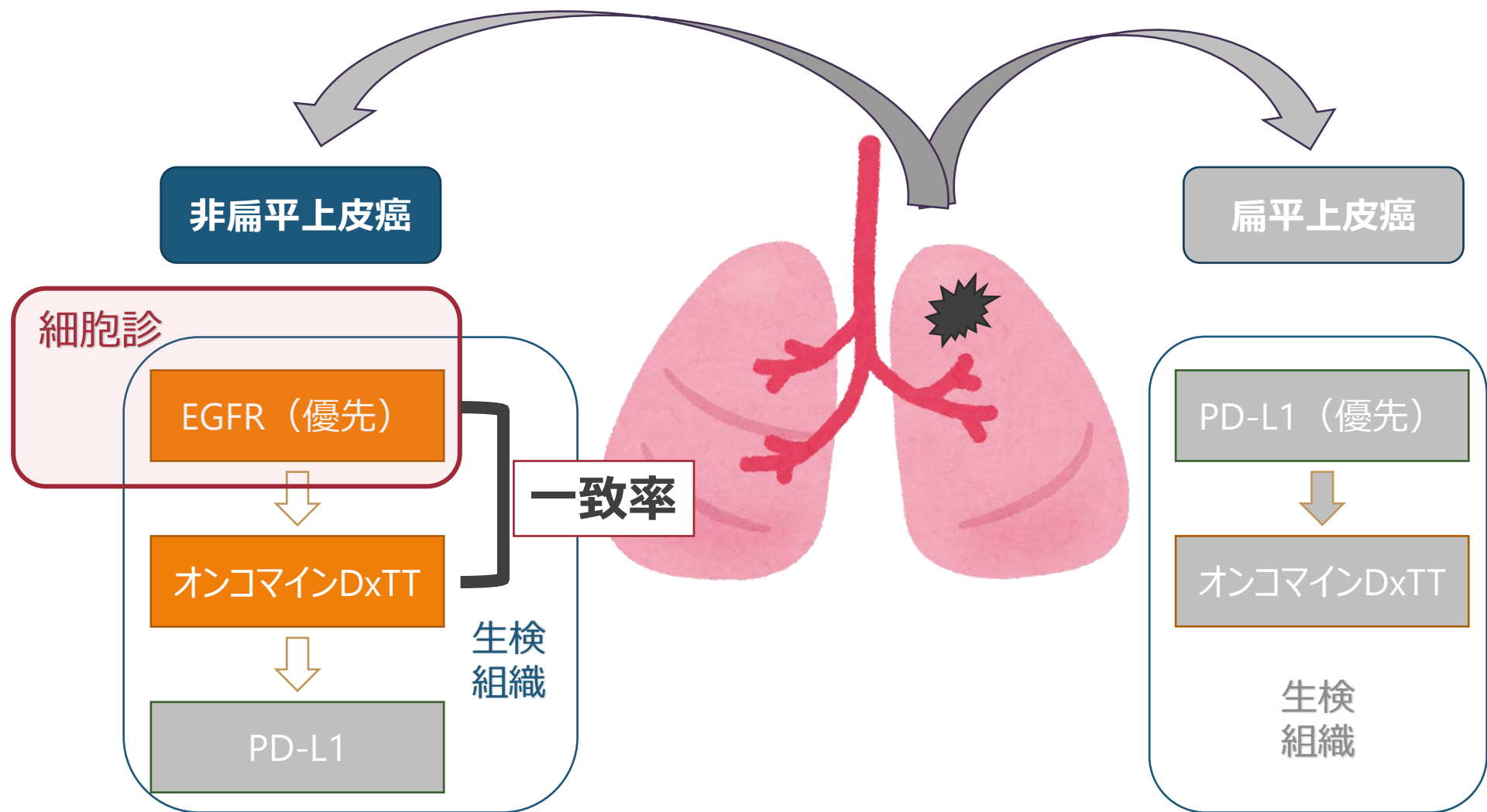
呼吸器内科との取り決めした

非小細胞肺癌バイオマーカー検索アルゴリズム



呼吸器内科と取り決めた

非小細胞肺癌バイオマーカー検索アルゴリズム



組織（オンコマインDxTT） vs. 細胞診（コバス v2.0）

2019年7月～2021年8月（86件）

検体：肺生検(TBB) vs. 気管支擦過・気管支洗浄液
縦隔リンパ節穿クロット vs. 縦隔リンパ節穿針洗浄液

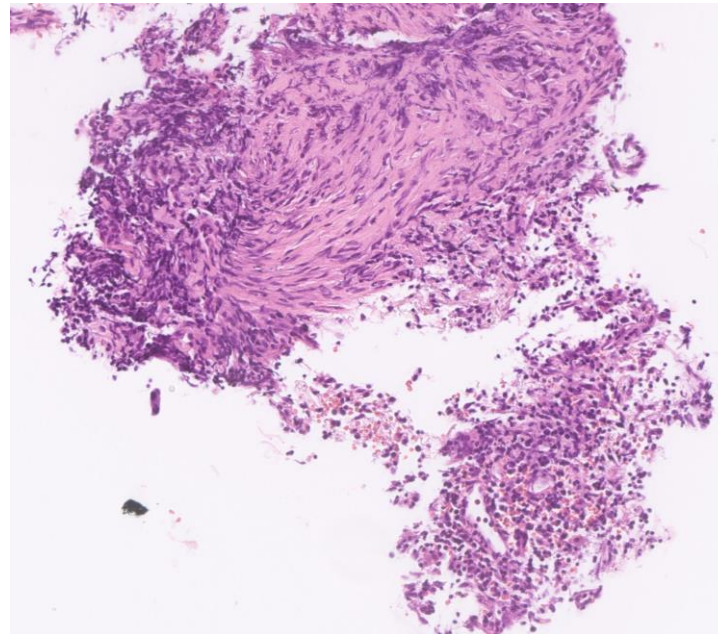
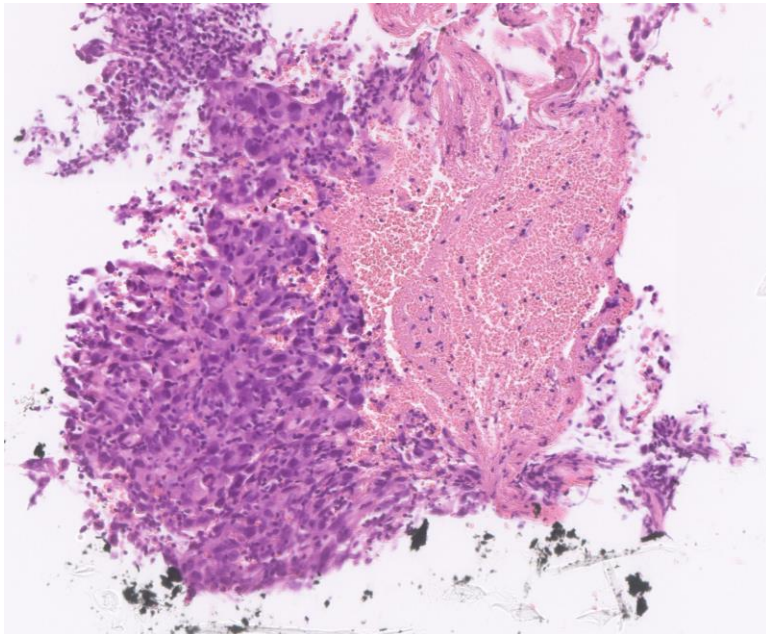
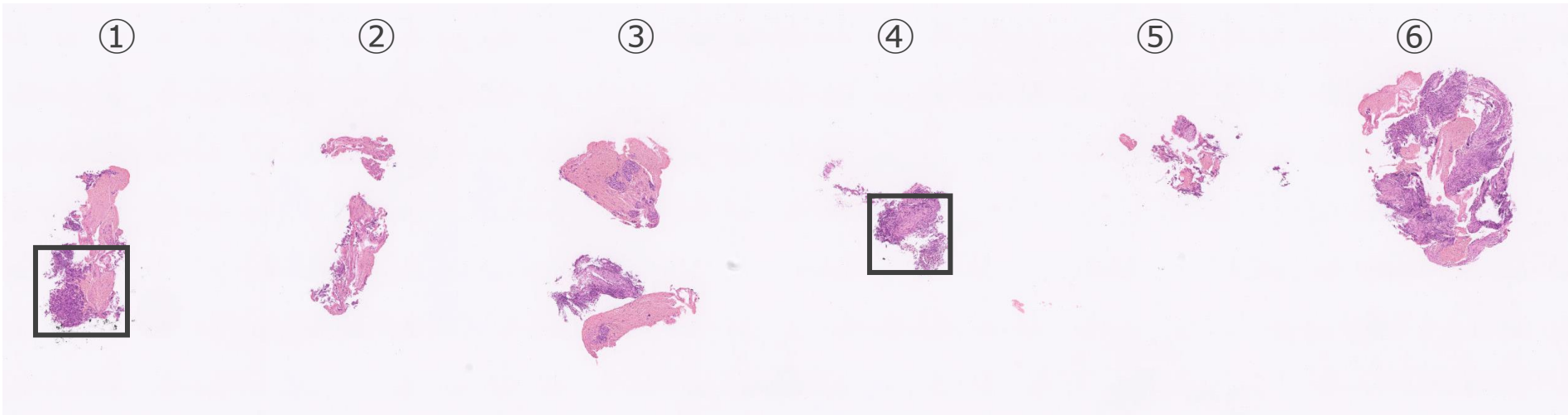
オンコマインDxTT：オンコマインDx Target Test マルチ CDxシステム

コバス v2.0：コバス® EGFR 変異検出キット v2.0

		組織（オンコマイン）				
		変異あり	変異なし	検査 未提出	検査 不能	計
細胞診 (コバス)	変異あり	21	1	18	2	42
	変異なし	0	35	9	0	44

- 組織と細胞診の一致率は98%
⇒ 不一致例：Ex19バリエント決定検査 c.2253_2276del24
- 腫瘍細胞量/細胞率が低いため、オンコマイン未提出例は27例
⇒ EGFR変異(+) でオンコマイン未提出と判断した例もある

経気管支肺生検＜オンコマイン不成功例＞



腫瘍細胞あるが、①以外は腫瘍細胞僅少で③-⑥は炎症細胞浸潤が高度。腫瘍細胞数は約200個

コバス法（細胞診検体）で、
Ex21 L858R
検出

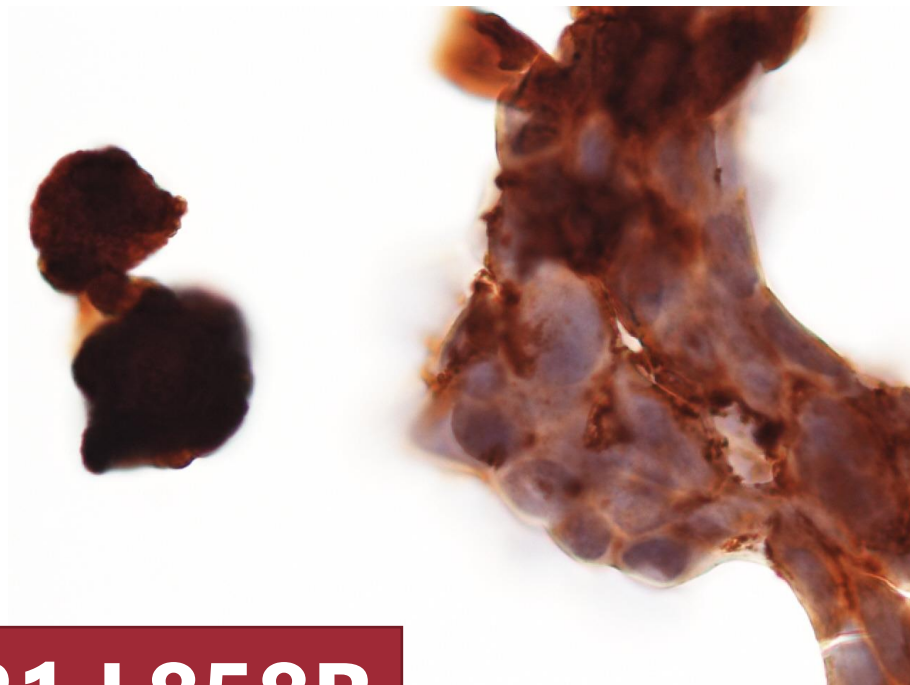
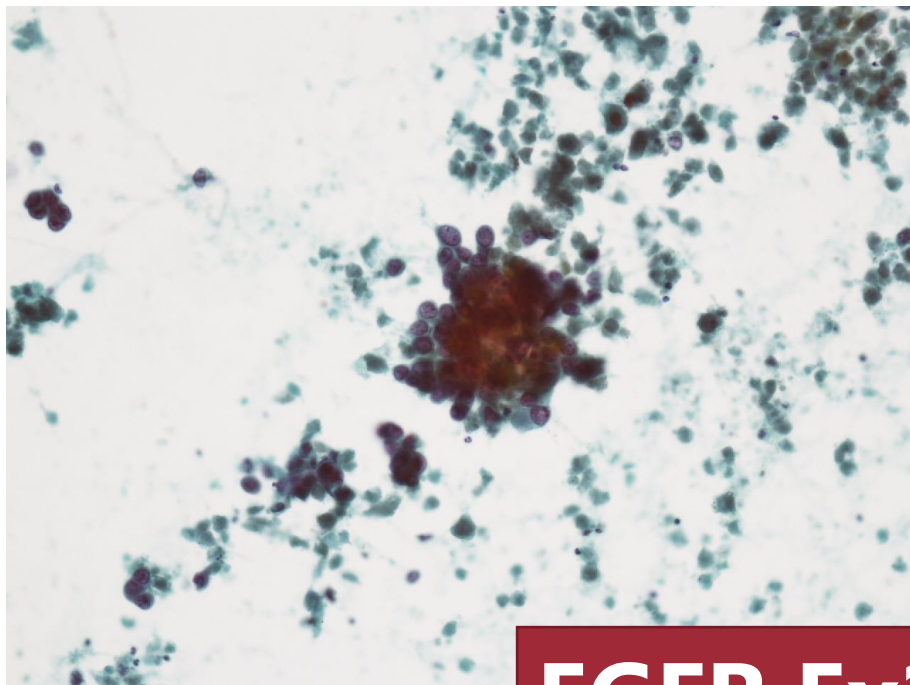
細胞診LBC法導入の利点

1. 標本作製の標準化
 - 的確な精度管理
 - 不適正標本の減少
2. スクリーニング効率の向上
 - 細胞検査士の負担軽減
3. 検体保存
 - 免疫染色の追加
 - 遺伝子検索
 - 細胞保存液で長期安定
 - 脱パラ操作不要で簡便

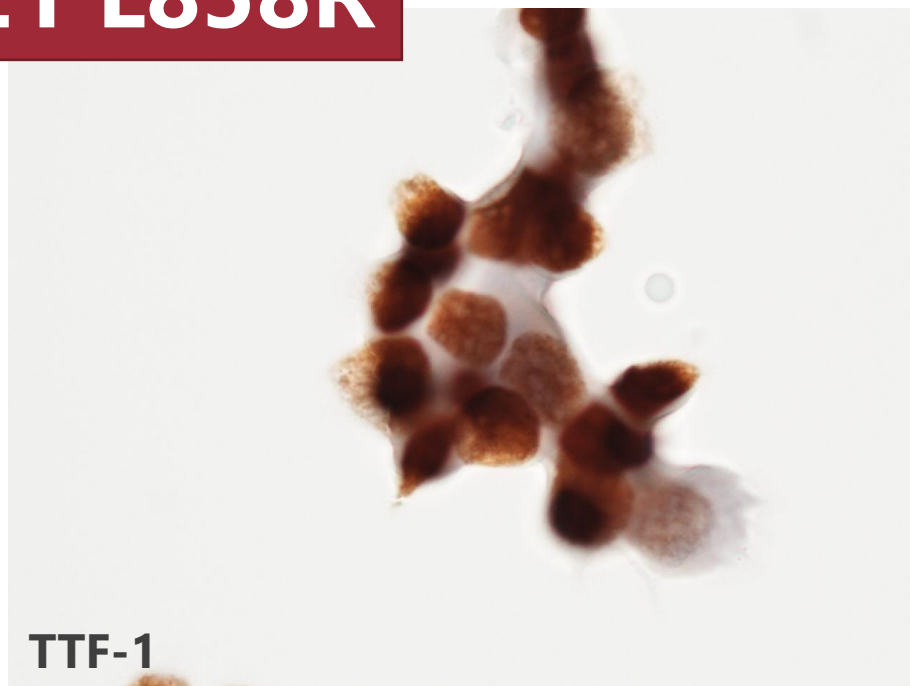
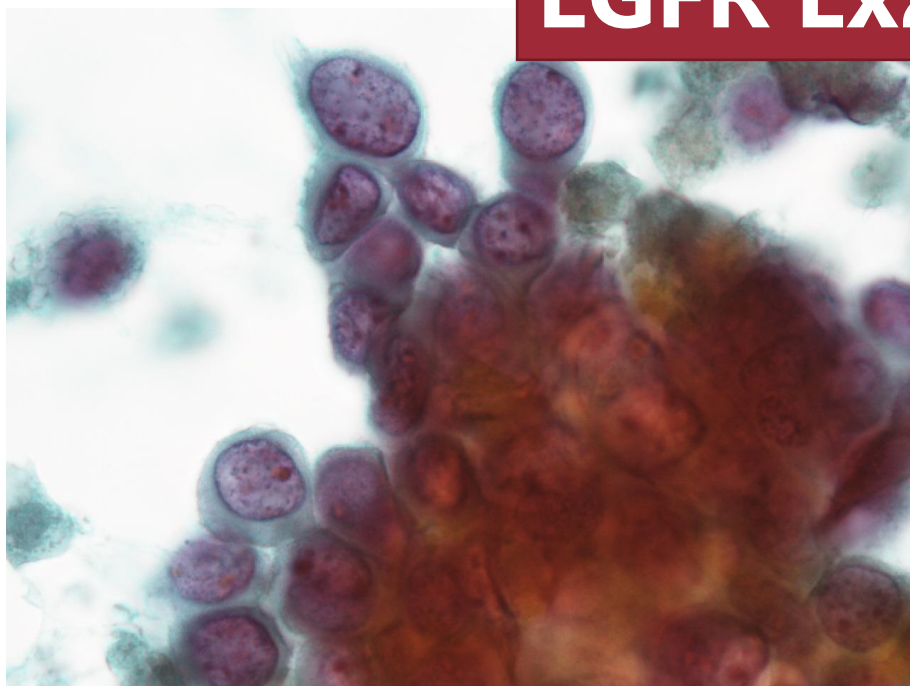
原発巣推定にEGFR遺伝子変異検査が有用であった 甲状腺腫瘍の症例

- 60代、女性
- 肺癌（腺癌, EGFR Ex21 L858R）にて化学療法中
- 甲状腺のびまん性腫大が急速に進行
- 低分化型乳頭癌、未分化癌、肺癌の甲状腺転移が疑われ、甲状腺穿刺吸引細胞診施行





EGFR Ex21 L858R



TTF-1

結語

- 細胞診検体は、LBC標本とすることで残検体を遺伝子検査等に有効活用できる
- 遺伝子検査は、治療方針決定に重要な役割を果たすほか、診断補助に利用できる
- 細胞診検体は組織診（FFPE）検体より良質なDNA、RNAを採取できるため、高精度の遺伝子検査への応用も期待される