

<シンポジウム> 細胞診と遺伝子検査-実用化に向けて-

1. 細胞診検体を用いた EGFR 遺伝子変異解析

○白波瀬浩幸、山田洋介、吉澤明彦、南口早智子、羽賀博典
京都大学医学部附属病院 病理診断科/病理部

次世代シーケンサー（NGS）を使用してがん関連遺伝子を網羅的に検索する「がん遺伝子パネル検査」が保険適用となり、病理検体はゲノム診療用検体としての重要性が高まっている。一般的には手術や生検で採取されたホルマリン固定パラフィン包埋（formalin-fixed, paraffin-embedded：FFPE）検体が用いられるが、採取から固定までの時間や固定液（ホルマリン濃度や pH、緩衝剤の有無）、固定時間など、様々な因子によって核酸品質が左右される。

細胞診検体は、採取から固定までの時間が短く、アルコールベースの固定液や細胞保存液を用いるため良質の核酸を得ることができる。また、顕微鏡標本作製までの時間が短いため、検査所要時間（turnaround time：TAT）の短縮も可能となる。気管支鏡検査では、細胞診検体と生検組織検体の両者が得られることが多く、細胞診検体で EGFR 遺伝子変異検査を実施して迅速に治療方針決定に寄与することができ、生検組織検体を温存することで、組織型推定のための免疫染色や PD-L1 タンパク発現の検索、EGFR 遺伝子変異以外のより多くのドライバー遺伝子検索も可能となる。今回、細胞診検体の遺伝子検査応用の有用性について考えてみたい。

院内でコバス[®] EGFR 変異検出キット v2.0（コバス法）による EGFR 遺伝子検査を開始した 2017 年 10 月～2020 年 12 月までに細胞診検体を用いた EGFR 遺伝子変異検査件数は 187 件で、うち気管支擦過・洗浄液は 95 件（51%）であった。そのほか、縦隔リンパ節および表在リンパ節穿刺を合わせたリンパ節穿刺検体が 45 件（24%）、体腔液（胸水・心嚢水）が 33 件（18%）、その他の検体 14 件（7%）であった。患者背景は、男性/女性：97/90 例、年齢中央値 72 歳（30～91 歳）で、EGFR 遺伝子変異陽性率は 46%（86/185 件）、DNA 量不足のため測定できない検体が 2 件あり、内訳は髄液と縦隔リンパ節穿刺標本のスライドガラスから剥がして検索した症例であった。

また、外注検査としてオンコマイン Dx Target Test マルチ CDx システム（オンコマイン DxTT）にて遺伝子解析を開始した 2019 年 10 月から 2020 年 12 月までの期間に、ThinPrep[®] バイアルに保存した気管支擦過・洗浄液の残余検体を用いてコバス法にて EGFR 遺伝子変異検査を実施した件数は 54 件であった。うち生検組織 FFPE 検体からオンコマイン DxTT による遺伝子解析が同時に実施可能であったのは 39 件で、EGFR 遺伝子変異ありが 14 件、変異なしが 25 件であった。オンコマイン DxTT による生検組織検体とコバス法による細胞診検体の乖離はみられず一致

率は 100%であった。一方で、生検組織で腫瘍量が少ないまたは腫瘍細胞比率が低いためオンコマイン DxTT による遺伝子検査に提出できなかった件数が 13 件、検査提出したものの検査不能例となった件数が 2 件の合計 15 件あったが、細胞診検体を用いたコバス法による EGFR 遺伝子変異検査は実施可能であった。

進行した非小細胞肺癌患者の治療選択のためにはバイオマーカー検索が必須であるが、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少なからずあることから、治療方針決定のために細胞診検体を有効に活用することが重要になる。

