
演題名 SISH法を用いたHER2遺伝子増幅検査方法

氏名 北村和則

所属 ロシュ・ダイアグノスティック株式会社 TD事業部

【目的】HER2タンパクを標的とした分子標的治療薬 Herceptin(Trastuzumab)治療症例選別のため、HER2検査は必須である。現在のHER2検査はHER2タンパクの過剰発現はIHC法で、HER2遺伝子の増幅はFISH法にて測定されるのが主流である。FISH法は感度も高く、シグナルのカウントもしやすい非常に優れた方法である。しかしながら、手技が煩雑であり、シグナル観察は暗視野で蛍光顕微鏡を使用しなければならない。さらに、蛍光シグナルが退色するために、永久標本にならず写真撮影を余儀なくされる。検査員、病理医にかなりの負担が掛かっていることが予想される。そこで、光学顕微鏡で組織形態を観察しながらシグナルカウントができ、永久標本作製が可能なSilver *in situ* hybridization(SISH)法について染色方法、判定方法を紹介する。

【SISH染色方法】SISH法はISH法でありシグナルの検出に銀を用いる方法である。切片に、熱処理、酵素処理を施した後、HER2 or Chr17プローブをハイブリダイゼーションさせる。プローブのハプテンを抗体で検出し、最終的には反応液中の銀イオンが、HRP、H₂O₂、ヒドロキノンの作用により銀顆粒となり黒のシグナルとして観察される。試薬は全てキット化されており、自動染色装置を使用して染色する。脱パラフィンから対比染色まで6時間30分で終了する。後は、脱水・透徹・封入作業で標本作製が終了する。

【判定方法】現在は2枚の切片を使ってHER2、Chr17を染め分けシグナルカウントをしてHER2/Chr17比を算出する。判定方法は最新のASCO/CAPのガイドラインに沿ったものである。HER2/Chr17 < 1.8(negative)、1.8 ≤ HER2/Chr17 ≤ 2.2(equivocal)、2.2 < HER2/Chr17(positive)とする。HER2、Chr17それぞれのシグナルを同一領域で20細胞カ

ウントする。HER2/Chr17比を算出し、equivocalの場合、さらに別領域にて20細胞をカウントし、再評価する。客観的なデータを得るために専用の画像解析装置(VIAS)を使用することも可能である。本装置を使用すれば専用のプログラムによりHER2/Chr17比も瞬時に算出でき、画像付き報告書も簡単に作成することができる。

【まとめ】現在、HER2遺伝子の増幅検査法として用いられているFISH法は非常に優れた方法である。しかしながら、前述したように欠点を持っていることも事実である。手技が煩雑で蛍光顕微鏡を使って暗視野でのシグナル観察、さらには写真撮影も必要とするFISH法に比べ、永久標本として光学顕微鏡で組織形態を観察しながらシグナルカウントができるSISH法を紹介した。さらにSISH法は自動染色装置にて全自動で染色ができ、専用の画像解析装置を使用すれば苦勞なくHER2遺伝子の増幅判定を行うことができる。検査の標準化、精度管理の質的向上、迅速な検査結果が期待できる。HER2、Chr17の二重染色法も現在検討中である。