

乳癌捺印標本を用いたエストロゲンレセプター (ER) の検出

前島 澄子, 保谷 俊行, 吉田 佳子, 畑中 美紀, 佐藤 正幸
高橋 秀史, 松岡 伸一¹⁾, 秦 温信¹⁾, 服部 淳夫²⁾

札幌社会保険総合病院 検査部, 外科¹⁾

北海道社会保険病院 検査部²⁾

乳癌におけるエストロゲンレセプター (ER) の検出は、ホルモン療法の適応や予後推定因子として重要である。

今回われわれは自験乳癌36例の捺印細胞診標本を用いて ER 染色を行い、現行の EIA 法やパラフィン切片における ER 陽性率との相関性やその有用性について検討した。

捺印標本では72.2%が、パラフィン切片では66.7%が ER 陽性と判定された。これは EIA 法の陽性率58.3%を上回っており、同一症例におけるパラフィン切片と捺印標本の判定一致率は91.7%で、EIA 法との判定一致率はともに86.1%であった。組織内での ER 染色陽性細胞の分布は不均等であり、全症例に ER 染色陰性細胞の混在が認められた。

腫瘍細胞そのものを対象とする免疫染色は ER の検出にはきわめて有用で、捺印標本でも判定は比較的容易であった。今後 ER の検出を穿刺吸引材料に応用すれば術前の治療方針の決定におおいに役立つものと思われる。

キーワード：乳癌、エストロゲンレセプター(ER)、捺印細胞診標本、免疫染色

はじめに

乳癌におけるエストロゲンレセプター(ER)の検出は、ホルモン療法の適応や予後推定因子として重要である。近年、マイクロウェーブの使用によりパラフィン切片でも ER の免疫組織学的染色が可能となり、保険の適応にもなっている。しかし本邦における ER の測定は、生化学的方法 (Enzyme immunoassay : EIA 法、Dextran-Coated Charcoal : DCC 法など) が主流で、測定には一定量以上の凍結腫瘍材料が必要である。

今回われわれは自験乳癌例の捺印細胞診標本を用いて ER の免疫染色を行い、その有用性について検討したので報告する。

対象および方法

1) 対象

1998年1月から2000年6月までに当院において病理組織学的に乳癌と診断された症例のうち、EIA

法にて ER 陽性であった21例と ER 陰性15例を対象とした。組織学的には非浸潤癌 1 例、浸潤癌35例 (乳頭腺管癌 8 例、充実腺管癌11例、硬癌13例、粘液癌 2 例、管状癌 1 例) であった。

2) 方法

新鮮腫瘍剖面より捺印細胞診標本を作製し、95%エタノールで湿固定した。パパニコロウ染色を行った後、マイクロウェーブにて抗原賦活化を行い、抗 ER モノクローナル抗体 (ニチレイ) を用いて免疫染色 (HRP 標識アミノ酸ポリマー試薬・シンプルステイン) を行った。捺印標本中の腫瘍細胞の数は症例によってバラツキがあるため、原則として10視野以上300個の腫瘍細胞を数え、ER 染色率 (%) を求めた。同様にホルマリン固定パラフィン切片を用いて免疫染色を行い、10視野以上1000個の腫瘍細胞から染色率 (%) を算定した。ともに染色率10%以上のものを細胞組織学的 ER 陽性とした。

得られた ER 陽性率と EIA 法との比較および

ER 染色率と EIA 定量値との比較を行った。

結 果

免疫染色では ER は細胞核にびまん性に染色されており、捺印標本でも判定は比較的容易であった (図 1)。

EIA 法と捺印標本の ER 染色率との相関をみると、両者は回帰分析にて有意な相関関係を認めたが ($p < 0.0001$)、EIA 法で ER 陰性であった症例の中に捺印標本で ER 陽性細胞が検出された (図 2)。

捺印標本では 72.2% が、パラフィン切片では 66.7

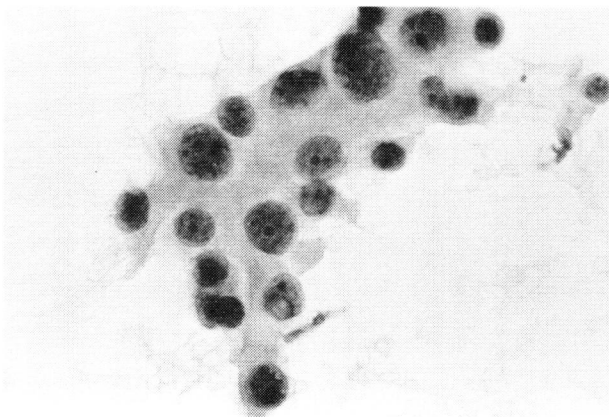


図 1 ER 染色・捺印標本 (対物×40)

% が ER 陽性と判定された。これは EIA 法の陽性率 58.3% を上回った (表 1、2)。

また同一症例における EIA 法との判定一致率はともに 86.1% で、パラフィン切片と捺印標本の判定一致率は 91.7% (表 3) であった (表 1、2)。組織内での ER 染色陽性細胞の分布は不均等であり、全症例に ER 染色陰性細胞の混在が認められた。

捺印標本における ER 染色率 (%) と EIA 法による定量値を比較から、免疫染色での ER 陽性判定

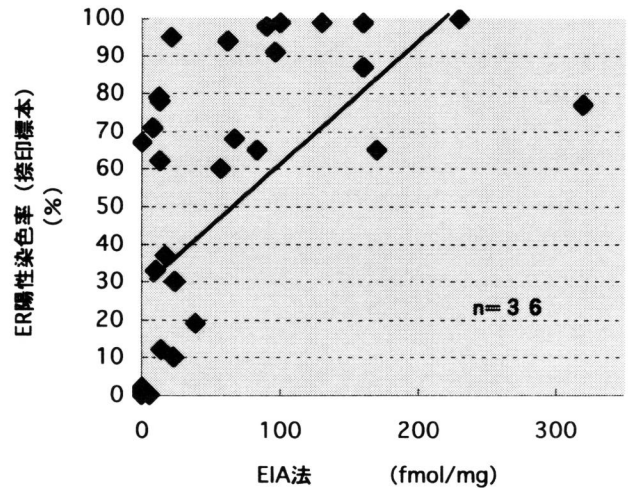


図 2 EIA 法と捺印標本との相関

表 1 ER 陽性率 (EIA 法/捺印標本)

		捺印 標本		合計 (%)
		ER 染色陽性 (%)	ER 染色陰性 (%)	
EIA 法	ER 陽性 (%)	21 (58.3)	0 (0.0)	21 (58.3)
	ER 陰性 (%)	5 (13.9)	10 (27.8)	15 (41.7)
合計 (%)		26 (72.2)	10 (27.8)	36 (100.0)

陽性/陰性判定一致率 $(21+10)/36 \times 100 = 86.1\%$

表 2 ER 陽性率 (EIA 法/パラフィン切片)

		パラフィン 切 片		合計 (%)
		ER 染色陽性 (%)	ER 染色陰性 (%)	
EIA 法	ER 陽性 (%)	20 (55.6)	1 (2.8)	21 (58.3)
	ER 陰性 (%)	4 (11.1)	11 (30.6)	15 (41.7)
合計 (%)		24 (66.7)	12 (33.3)	36 (100.0)

陽性/陰性判定一致率 $(20+11)/36 \times 100 = 86.1\%$

表 3 ER 陽性率 (パラフィン切片/捺印標本)

		捺印 標本		合計 (%)
		ER 染色陽性 (%)	ER 染色陰性 (%)	
パラフィン 切片	ER 染色陽性 (%)	24 (66.7)	1 (2.8)	25 (69.4)
	ER 染色陰性 (%)	2 (5.6)	9 (25.0)	11 (30.6)
合計 (%)		26 (72.2)	10 (27.8)	36 (100.0)

陽性/陰性判定一致率 $(24+9)/36 \times 100 = 91.7\%$

表 4

ER陽性染色率 (捺印標本) (%)		n	EIA法 (fmol/mg)
	<10	10	5.2以下
10≤	<25	3	25.3
25≤	<50	3	17.0
50≤	<75	7	56.9
75≤		13	108.2

基準について検討した。ER 染色率をもとに5グループに分け、EIA 法での定量値の平均を求めた。細胞組織学的 ER 陽性とされた染色率10%以上の症例はすべて、現行の EIA 法の陽性基準である13fmol/mg以上を満たしていた (表4)。

考 察

ER は主に核内に存在しているため細胞診標本でも判定は比較的容易であったが、安定した染色技術の確立が不可欠である。実際われわれの検討でも染色が弱い場合やバックグラウンドが高い場合には判定が難しかったため、再染色を施し、再評価を行った。佐藤ら2) はパラフィン切片における免疫染色の注意点として、核染が強すぎたり、標本中に陽性細胞が全くない場合、あるいは腫瘍細胞の細胞質が陽性のときには再染色し、再評価する必要があると述べている。

まず、EIA 法の ER 陽性率が問題となるが、われわれの EIA 法における ER 陽性率は、DCC 法も含めた諸家1) - 4) の生化学的検査結果とも近似しており、妥当な値と考えられた。一方、細胞診標本における ER 陽性判定基準の検討は少ないが、パラフィン切片における判定基準については種々の試みが行われている。川畑ら3) は染色の濃さと染色されている面積をスコアで表し、より客観的に評価しようとしている。また貝森ら4) はポラロイドフィルムを用いて合計500個の乳癌細胞を数え、DCC 法陰性群の ER 陽性染色率の平均値から cut off 値を20%とした。佐藤ら2) は cut off 値0%、10%を比較検討した結果、感度、特異性、判定一致率のより高かった0%を判定基準として用いている。われわれの検討では染色率10%で cut off 値としたが、EIA 法との比較からも細胞診標本における ER 陽性判定基準は妥当なものと考えられた。

パラフィン切片における生化学的方法との判定一

致率は72%-93%とされている1) - 4) が、われわれの結果とほぼ同率であった。また捺印標本とパラフィン切片との間には ER 陽性率に大きな差はなく、EIA 法との判定一致率とも良く相関していた。捺印標本の ER 陽性率がパラフィン切片のそれより幾分高かったのは、固定法によるマスキングや抗原性の低下や失活の差が影響しているものと推測される。

免疫組織化学的に ER 陽性腫瘍であっても全く陰性を示す部分が混在するため、EIA 法や細胞診標本では広範囲のサンプル採取が必要となる。しかし、EIA 法では凍結腫瘍材料が必要なため検体採取には限界があり、非浸潤癌や硬癌のようにサンプル中の腫瘍細胞の割合が少ない場合には陰性と判定される可能性がでてくる。一方、細胞診標本ではパパニコウ染色によって腫瘍細胞の有無を確認したうえで ER 染色を行うことができるため、偽陰性はある程度回避できる。今回の検討でも EIA 法において ER 陰性と判定された症例の中に捺印標本では染色率の高い ER 陽性症例が含まれていた。腫瘍細胞そのものを対象として判断する免疫染色は ER の検出にはきわめて有用といえる。

結 論

乳癌における捺印標本による ER の免疫染色を行ったが、その染色検出率は生化学的方法 (EIA 法) とほぼ同等で、パラフィン切片における検出率ともよい相関性を示し、信頼度の高い検査法と考えられた。

今後 ER の検出を穿刺吸引材料に応用することにより術前の治療方針の決定に有用と思われる。

文 献

- 1) Shuji T, Eimei N, Hiroko A, et al : Immunohistochemical Detection of Estrogen Receptor in Invasive Human Breast cancer : Correlation with Heat Shock Proteins, pS2 and Oncogene Products. *Oncology* 52 : 371-375 1995
- 2) 佐藤文子、梅村しのぶ、伊藤 仁ほか : 乳癌の ER, PgR の評価方法について - 生化学的方法と免疫組織化学的方法の比較検討 - 乳癌の臨

床 15(4) : 436-441 2000

- 3) 川畑圭子、渡辺駿七郎、尾崎 聡ほか : 乳癌組織からの免疫組織学的 Estrogen Receptor の検出の検討. 臨床病理 43 (9) : 960-964 1995

- 4) 貝森光大、澤田茂博、高谷彦一郎ほか : 乳癌における Estrogen Receptor の免疫組織学的検討. 青県病誌 40 : 178-189 1995

Immunohistochemical study of estrogen receptor in imprint materials of breast cancer

Sumiko MAEJIMA, Toshiyuki YASUTANI, Yoshiko YOSHIDA,
Miki HATANAKA, Masayuki SATOH, Shuji TAKAHASHI

Department of Clinical Laboratory, Sapporo Social Insurance General Hospital

Shinichi MATSUOKA, Yoshinobu HATA

Department of Surgery, Sapporo Social Insurance General Hospital

Atsuo HATTORI

Department of Clinical Laboratory, Hokkaido Social Insurance Hospital

ERs were immunohistochemically studied in 36 patients with primary breast cancer in imprint preparations. The results were compared with those of enzyme-immunoassay (EIA) and immunohistochemical staining of paraffin-embedded materials. By immunohistochemical staining method, a mean overall ER positivity of 72.2% and 66.7% was obtained from imprint materials and paraffin-embedded specimens, respectively, and a mean positivity of 58.3% was obtained by EIA method. The concordance of ER positivity in parallel staining of imprint and paraffin-embedded materials was found to be 91.7%. The concordance of ER positivity between immunohistochemical staining and EIA was found to be 86.1%. It was suggested that preoperative detection of ER in aspiration materials is helpful in determining of the therapeutic approach.