

real world で病理医が 臨床医に求めるもの：呼吸器

南 優子[†]第76回国立病院総合医学会
2022年10月7日 於熊本

IRYO Vol.77 No.6 (414-418) 2023

要旨

肺癌領域では病理組織や細胞診検体を用いたコンパニオン診断および遺伝子診断が活発に行われていて、近年病理医との連携が声高に叫ばれ始めた。そのため、多職種カンファレンスが行われているがいまだ要望は臨床医から病理医への一方通行の体制が多くみられる。また病理医は内科や外科のように専門が細分化されておらず、病理医数は少なく、かつ必ずしも呼吸器の病理診断が得意ではない場合もあり、内科医や外科医が望むレベルまで各科の要望に答えられないことがある。一方、研究や治験、論文執筆、学会発表の際に病理医の協力を必要とし依頼するのであれば、研究費の配分、論文や学会発表の際に共著者とするのが他科の医師に対しての礼儀である。

ゆえに内科医や外科医は病理医がストレスなく、そして誤解なく診断が行えるように必要十分な情報を依頼書に記載することが必要である。病理検体の取扱いに際してはとくに検体を迷子にしないことが重要で、検体を固定するためのホルマリン瓶には患者名やIDが記載されたラベルを瓶の側面に貼ること、検体処理は1症例ずつ行うことが大切である。

また患者治療に直結するコンパニオン診断、遺伝子診断のためには採取した検体を速やかに4℃冷蔵保存3時間までか、ただちに10%中性緩衝ホルマリンで固定をすることが必須である。正しく固定しDNAやRNAの質の担保を行わなくてはコンパニオン診断、遺伝子検査で必要な結果が得られない。

キーワード 病理医, 病理検体取扱い, コンパニオン診断, 質の担保

はじめに

昨今、肺癌領域では患者治療方針決定のために、病理組織や細胞診検体を用いたコンパニオン診断、遺伝子診断が活発に行われていて、病理医との連携

が声高に叫ばれ始めた。多職種カンファレンスが行われているとはいえ、病理医は患者と直接接する業務ではなく患者の状態は知らない上に、取っ付き難く、暗く、口喧しく、顕微鏡ばかりみているイメージが先行している。臨床医とのコミュニケーション

国立病院機構茨城東病院胸部疾患・療育医療センター 病理診断科 †医師

著者連絡先：南優子

国立病院機構茨城東病院胸部疾患・療育医療センター 病理診断科

〒319-1113 茨城県那珂郡東海村照沼825

e-mail : minami.yuko.qs@alumni.tsukuba.ac.jp

(2023年3月2日受付 2023年8月4日受理)

What Pathologists Expect from Clinicians in the Real World: Respiratory

Yuko Minami

NHO Ibarakihigashi National Hospital, The Center of Chest Diseases and Severe Motor & Intellectual Disabilities,

Department of Pathology

(Received Mar. 2, 2023, Accepted Aug. 4, 2023)

Key words : pathologist, pathological sample management, companion diagnosis, assurance of quality

不足も否めないが、病理医から臨床医への要望もあるのにもかかわらずいまだ要望は臨床医から病理医への一方通行の体制が多くみられる。また病理医は内科や外科のように専門が細分化されていない場合もあり、内科医や外科医が望むレベルまで各科の要望に応えられない場合もある。本稿では、real worldで呼吸器を専門とする病理医が臨床医に求めるもの、病理医とのよりよい連携の仕方を述べていきたい。

少ない人数の病理医

病理医の診療は専らヒトの臓器や組織から採取された標本を顕微鏡で観察し、医行為である病理診断を行うことである。そして病理診断を通じて、各臨床診療科の治療方針決定に重要な役割を担っている。病理医の業務は病理診断（細胞診断、生検組織診断、手術組織病理診断、標本処理における固定や切り出しが含まれる）、さらに病理解剖、肺癌においては分子診断などコンパニオン診断を行い、また各臨床診療科とのカンファレンス、院内の委員会や管理業務である。診療以外では講義、論文執筆、学会発表、講演を行い、自身の研究、他科の研究協力も行う。厚生労働省の令和2年の医師統計の概況によると、内科医61,514人うち呼吸器内科医6,728人、外科医13,211人うち呼吸器外科医2,075人、病理医は2,073人である¹⁾。ただし、病理医は臨床医のように専門性で細分化されておらず、1人の病理医が多くの種類の臓器を診断し、さらに呼吸器、肺癌を得意とする病理医は多くない。また1人病理医も多く、2016年の日本病理学会から844病院中371病院が1人病理医であると報告されている。よって、全臨床診療科の全要望に対応することが困難であることを是非知っていただきたい。さらに研究や治験、論文執筆、学会発表の際に病理医の協力を必要とし依頼するのであれば、研究費の配分、論文や学会発表の際に共著者とするのが他科の医師に対しての礼儀である。そして、1人病理医の場合、その病理医が休める、学会などに行ける体制作りが必要である。たとえば、不在時の迅速診断や解剖があるならば他院からの応援を依頼し、その人件費用は病院が負担する、または手術を調整し迅速診断を止め、解剖も止めるということなどが病理医に対しての適切な対応であり、働き方改革が取り沙汰されている昨今のご時世に必要なものである。

病理検体の取扱い

最も大切なことは検体を迷子にしないことである²⁾。すなわち、検体の取り違えや紛失に最大限の注意を払うことが必要である。これは病理側の注意のみならず、臨床側も同様に注意が必要である。一旦、体外に取り出されたすべての検体は肉眼では類似している。臨床では患者本人が氏名や生年月日を声に出して本人確認を行うことや、リストバンド装着で容易に確認が可能であるが、細胞診、生検、手術検体になると名前やIDを検体に直接記載することはできない。そのうえ、肺から採取される検体には左右上中下、肺門では気管支の枝、分岐部、軟骨部なのか膜様部、またリンパ節から採取されることもあり、肺癌診断目的に生検する際に組織型のみならず、局在が重要になってくる場合がある。ゆえに、臨床側は依頼書に患者氏名・IDはもとより、採取日時・部位・方法等を正確に依頼書に記載し、検体の属性、疑い病名、検査目的を記すことが必須である。そして、取り違え防止のため、採取時には1件ずつ検体処理を行うこと、ラベルには患者ID、氏名を記載すること、ラベルは検体瓶の側面に貼ることが重要である。検体が入っている検体瓶の蓋にラベルを貼ると、蓋を取り違えてしまった場合に検体の取り違えも起こる（図1）。

また肺には原発性肺癌以外に、転移性腫瘍、良性腫瘍や炎症性疾患もみられるので、生検目的も良悪性の診断や肉芽腫の有無、菌体の確認などさまざまであり、採取されたものが標的物であるかは臨床診断、依頼内容に基づく。さらに悪性腫瘍歴の記載は転移性か原発性腫瘍なのかの鑑別に必須であり、その他喫煙歴、上昇している腫瘍マーカー、鑑別疾患の記載があることが望ましい。なお、鑑別疾患はただ羅列せず、医師の良識の範囲で記載していただきたい。

悪性か否かの診断でよい時代もあったが、現在肺癌では組織診断とともに、治療のためのコンパニオン診断、遺伝子検査が重要項目である。そのため、検体を最適な方法で十分量採取することが必須である。臨床医は患者の治療選択のために、採取検体で、病理診断、遺伝子検査を病理医に依頼するので、病理医が診断できる検体を提出し、必要十分な情報が盛り込まれた依頼書の作成、取り違えをしない検体処理操作を行う責任がある。



図1 検体瓶の側面に患者名, IDが記載されたラベルを貼る。蓋に貼ってはいけない。

病 理 依 頼 書

患者ID **007000110** 病理番号 (病理使用欄)

カナテスト 五作 オグ番号 18840379 版数: 01

患者氏名 **テスト 五作** インターホン番号又は内線番号

生年月日 1965年12月12日 57歳2ヶ月 男性

住 所

依頼元 呼吸器外科 主治医 呼吸器外科医

依頼医 青 優子 検体採取日時 2023年02月28日 (火) 16:34

患者所在

院取順	枚数	部位	処理方法	印刷部	検定部
1	1	右肺下葉	operation		
2	1	縦隔リンパ節	operation		
3					
4					
5					
6					
7					
8					

臨床診断 下葉肺癌

既往歴 喫煙: 20-50歳 10本/日 既往: 糖尿病 (45歳~)、虫垂炎 (15歳) 既往までの検診は異常なし。 2023年1月の術後検診で右下肺野に異常陰影指摘。 2023年2月当院受診し、CTで右下肺葉に25mmのSolidな腫瘍を認めた。肺門のリンパ節の増大あり。cT1-T-SPOI、キヤピリアMM抗体陽性、クラプトコジカス抗原陽性、CEA 3.5 気管支鏡生検では癌と診断された。 cT1c N1 M0 cStage IIb RPL-NOD2を行う。

検査目的 組織型、病期診断、術後遺伝子検査予定

シユーム描画

腫瘍の部位や合併臓器を图示するとわかりやすい。

治療情報 抗がん剤 (未使用) リンパ節情報 #7, #9, #10, #11

検査回数: 2回
ラベル枚数: 2枚

感染症情報

最終月経

性別

妊娠回数

出産回数

経産数

Page: 1/1

図2 病理依頼書には経過, 喫煙歴や既往歴, 感染症情報, 術前診断などを記載し, 腫瘍の部位や合併臓器を图示するとわかりやすい。

手術検体の依頼書

肺癌手術の場合, 合併切除臓器として他肺葉, 肋骨, 横隔膜, 壁側胸膜, 縦隔脂肪組織などが切除肺に付着して採取されることがある。その場合も合併切除した臓器名, その臓器が切除肺のどこに付着しているかを記載することが必要である。記載がないと, 病理病期を誤る場合があり, また合併臓器が断端陽性の場合など術後治療に影響を及ぼすことがあ

る。切除した肋骨が何番目であるか, 胸壁だけ別に採取した場合はどの部分が腹側か背側かも記載が必要である。呼吸器外科医は依頼書に图示し, 病理医がわかるように記載しておくことが誤認を予防することになる。手術検体においてはさらに感染症の有無の記載, 悪性腫瘍歴の記載は必須であり, その他喫煙歴, 上昇している腫瘍マーカーも記載することが望ましい (図2)。

肺の手術検体の腫瘍で今後遺伝子検査を行うこと

表 1 : マルチコンパニオン診断kitの比較

遺伝子パネル名	Oncomine Dx TT	Amoy Dx
測定方法	Next generation sequence	PCR
測定対象遺伝子数	46	9
コンパニオン診断	EGFR, ALK, ROS1, RET, BRAF V600E, ERBB2	EGFR, ALK, ROS1, MET, BRAF V600E, KRAS G12C, RET
検査材料	FFPE,* FF検体**	FFPE*, FF検体**
必要DNA量 (RNA量)	DNA : 10 ng RNA : 10 ng	DNA : 3 カ月以下 67.5 ng 3-12カ月 90 ng, 12-24カ月 112.5-135 ng RNA : 120-1200 ng
腫瘍細胞含有率	30%以上	20%以上
検体の大きさ	4 mm ² 以上*1 4 mm ² 未満*2	生検 2-3 個 手術 5 mm ³ 以上 7 mm ² 以上
切片厚と枚数	*1 : 5 μm厚 5-10枚 *2 : 5 μm厚15枚以上	5 μm厚 7-10枚
保険点数	14,000点	10,000点

2023年2月28日現在 Oncomine DxTT, Amoy Dx添付文書より作成

*FFPE : Formalin fixed paraffine embedded, **FF : Flesh frozen

もあるので⁴⁾、次の項の遺伝子診断のための検体についても参照していただきたい。

遺伝子診断のための検体取扱い

肺癌では組織を用いた遺伝子検査が行われることが多い。肺癌診療ガイドライン³⁾にも、肺癌の治療方針決定のためには標的療法薬が存在する遺伝子 (Epidermal Growth Factor Receptor : EGFR, anaplastic lymphoma kinase : ALK, RET, BRAF, ROS1, MET, KRAS) に対する分子診断, 免疫チェックポイント阻害薬を用いるためのPD-L1免疫組織化学検査を行うことが推奨され、これらの検査は同時に行うことが提案されている。さらに日本では術後治療としてEGFR-TKI (Tyrosine Kinase Inhibitor) であるOsimertinibを病理病期IIA以上に使用することも考慮されるようになり⁴⁾、ますます肺癌の組織検体の取り扱いが重要になってきている。

コンパニオン診断, 遺伝子診断を行うためには腫瘍のDNA, RNAの量, 質を保つ必要があり、そして腫瘍内における腫瘍細胞含有率も重要な要素である。現在、保険収載されていて、がん診療拠点病院以外でも使いやすいマルチ遺伝子解析の検査としては、Oncomine DxTT (サーモフィッシュサイエントフィック ライフテクノロジーズジャパン株式会社), Amoy Dx (株式会社理研ジェネシス) がある。それぞれコンパニオン診断としてカバーする

遺伝子や必要DNA, RNA量, 腫瘍細胞含有率などが異なるので提出時には適切な検体を作成し提出する。採取量に関しては表1を参照してほしい(表1)。

一般的にはDNA, RNAの質の担保にはプレアナリシス段階, アナリシス段階での検体の適切な取り扱いが必要である⁵⁾(表2)。アナリシス段階は主として病理医や検査会社に対応することなので臨床医にはあまり関係がないが、プレアナリシス段階の固定前プロセス, 固定プロセスは臨床医が関わることなので、是非検体の取扱い方の知識としてもってほしい。

固定前プロセスで重要なことは、血流が遮断されてから固定されるまでの時間、未固定検体の取扱いである。血流が遮断された検体が冷保存されるまでの時間、ただちに固定されるのであれば固定までの時間が温虚血時間となる。温虚血時間の規定はされていないが検体を体内から取り出した後、速やかに4℃保存ないしはただちにホルマリン固定を行うことが望ましい。一方、未固定検体が4℃保存されている時間は冷虚血時間といい、これは3時間以内が望ましいとされている。手術の未固定検体は冷蔵庫で4℃保存後、術後病理室への検体の移動も4℃の保冷バッグなどを用いることが必要である。生検検体の場合は通常検査室内でホルマリン固定液を用い浸漬固定されるので4℃保存は必要なく、室温で問題はない。

固定プロセスでは固定液は手術検体も生検検体も

表 2：検体の取扱い，プレアナリシス段階

プレアナリシス段階の工程	工程の主な責任・担当者	影響因子
固定前プロセス	検体採取者（内科医，外科医，内視鏡医，放射線科医，看護師など）	<ul style="list-style-type: none"> ・血流停止から摘出までの時間（温虚血時間：warm ischemic time） ・摘出から固定までの時間（冷虚血時間：cold ischemic time） ・組織の大きさ
固定プロセス	病理医 病理技師 （外科医，内科医）	<ul style="list-style-type: none"> ・ホルマリン固定液の組成や濃度，pH ・ホルマリン固定の時間や温度 ・ホルマリン固定時の固定液容量と組織量の比率 ・固定液の組織浸透法（浸漬，注入，マイクロウェーブ加速など）
固定後プロセス	病理医 病理技師	<ul style="list-style-type: none"> ・組織プロセッサーのタイプおよび機器試薬の交換頻度 ・脱水，透徹条件（試薬の種類，温度，時間など） ・パラフィン浸透条件（パラフィンの種類，温度，時間など） ・薄切切片の乾燥温度，時間 ・薄切時のコンタミネーション（水，マイクロトーム刃，呼吸，筆など）

文献5)を参考とし作成

10%中性緩衝ホルマリンが推奨されている。肺部分切除検体など気管支がわからないような検体はステープルを外して、20-22 G の注射針を肺に刺して、ホルマリンを満遍なく注入し肺を膨張させて固定することがよい。その際、ステープルを外した面からホルマリンがこぼれるが肺が膨張していれば問題ない。区域切除以上検体で気管支や血管が確認できる場合は、血管のステープルないしは結紮糸を外し、血液を排出する。その後、気管支断端のステープルを外して気管支からシリンジなどでホルマリンを注入する。膨張不良な部分は胸膜から 20 から 22 G の注射針を肺に刺してホルマリンを注入する。とくに術前のCT画像などで腫瘍がGround glass opacity : GGOを示していないsolidな腫瘍の場合や大型の腫瘍の場合はホルマリンが周囲の肺組織から浸透しにくいので腫瘍自体に直接針を刺し、ホルマリンを注入することでとくにRNAの質が保たれやすい。

おわりに

病理医は患者に直接接していないが、患者の治療上重要な診断を担っている。臨床医は臨床医だけで患者を診療していると自惚れず、病理医の現状を理解し、病理医と密に連携し、適切に検体を取扱い、患者へよりよい医療を還元していくことが望ましい。

〈本論文は第76回国立病院総合医学会シンポジウム「今更聞けない病理部門とのつきあい方『専門医取得をめざす若手医師達へ 病理×臨床win-winな関係を目指して、今更聞けない病理部門とのつきあい方を伝授する。』」において「real worldで病理医が臨床医に求めるもの：呼吸器」として発表した内容に加筆したものである。〉

利益相反自己申告：申告すべきものなし

[文献]

- 1) 令和 2 (2020) 年医師・歯科医師・薬剤師統計の概況, 2022 (Accessed Mar.10th, 2023 at https://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/ishi/20/dl/R02_1gaikyo.pdf)
- 2) 病理検体取扱いマニュアル. 初版, 2016 (Accessed Mar.10th, 2023 at https://pathology.or.jp/news/pdf/manual_all_160719.pdf)
- 3) 日本肺癌学会編. 肺癌診療ガイドライン 悪性胸膜中皮腫・胸腺腫瘍含む. 東京：金原出版；2022.
- 4) Yi-Long Wu, Masahiro Tsuboi, Jie He, et al. Osimertinib in Resected *EGFR*-Mutated Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. *N Engl J Med* 2020 ; **383** : 1711-23.
- 5) 日本病理学会編, ゲノム研究用・診療用病理組織検体取扱い規程. 東京：羊土社；2019.