

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）  
分担研究報告書

高度専門機関と拠点病院の診断支援連携に関する研究

研究分担者 長谷部 孝裕 国立がん研究センター東病院病理科・臨床検査科医長

### 研究要旨

研究目的は病理診断コンサルテーションにおけるバーチャルスライド（VS）を用いたコンサルテーション診断意見作成の試み、VSによる研究論文組織画像作成の試みである。

VSのみによる診断意見作成症例は1例、VS・標本併用による診断意見作成症例数は7例であった。VSのみで診断意見作成依頼登録された症例の診断意見作成は、問題なく行なえた。VSを供覧したコンサルタントからは、標本到着以前にVSにより登録症例の病理組織像を観察することができ、有益であったとする意見を得た。研究論文で使用する組織画像を、VS画像を用い英文学術誌に投稿し、研究論文用の病理組織画像としてVS画像は十分使用可能であることが確認できた。

コンサルテーション症例診断意見作成におけるVSの有用性については、まだその症例数は少ないが、従来の標本による診断意見作成とほぼ同等の診断意見作成が可能と考えられた。今後は、コンサルト症例のVS画像を集積し、VS公開の改善点などを調べ、コンサルテーション症例のVSをReference data baseとして公開できるよう準備を進める。研究論文用の病理組織画像として、現状は病変のルーペ像、弱拡大像が主体であるが、中一強拡大像、免疫染色画像などの論文用病理画像の作成もVSにおいて行なえるか否か今後検討する。

### A. 研究目的

- 1) 病理診断コンサルテーションにおけるバーチャルスライド（VS）を用いたコンサルテーション診断意見作成
- 2) VSによる研究論文組織画像作成の試み

（倫理面への配慮）

コンサルテーション症例は全て匿名化後、診断意見作成が成される。VSを使用した研究は、国立がん研究センター倫理審査委員会にて審査・許可された研究であり、掲載VS画像の性別、年齢等は論文中には記されない。

### B. 研究方法

VSはコンサルテーション推進室に設置してあるVS撮影装置（オリンパス、VS100）により作製する。VS作製の対象はコンサルテーション症例である。VS公開用には症例のヘマトキエオジン（HE）染色標本を原則使用し、必要であれば免疫染色標本のVS作製も考慮する。

論文作成資料としてのVSは、国立がん研究センター中央病院症例であり、HE染色標本像を原則とする。

### C. 研究結果

VSのみによる診断意見作成症例は1例、VS・標本併用による診断意見作成症例数は7例であった。VSのみで診断意見作成依頼登録された症例の診断意見作成は、問題なく行なえた。VS・標本併用症例により登録された症例の診断意見作成も、問題なく行なわれ、VSと標本による診断意見に大きな差を認めた症例はなかった。症例のVSを確認したコンサルタントの方の中には、標本が手元に到着する以前に症例の病理組織像の

詳細をVSで観察することができ、有益であったと述べられた方もおられた。

研究論文で使用する弱-中拡大組織画像を、VS画像を用い英文学術誌に投稿したが、査読者より投稿写真としての質の不良は指摘されず、論文資料としてVSは十分な画質を有することが確認できた（論文発表：2) -6)）。

#### D. 考察

コンサルテーション症例診断意見作成におけるVSの有用性については、症例数も少ないことより明確な結論は導き出せないが、難解症例が多くを占めるコンサルテーション症例においても、従来の標本による診断意見作成とほぼ同等の診断意見作成が十分可能と考えられる。また、コンサルタントは自身が担当する症例の病理組織像をあらかじめVSにより確認できることは、コンサルタントの方々にとっても、有益なことと考えられる。難解なコンサルテーション症例の病理組織像のVSをコンサルテーションで使用する点において注意すべき点などは、今後、VS診断意見作成症例を集積し、診断意見作成におけるVSの有用性、改善点などを評価したいと考えている。以上のことは、コンサルテーション症例のVSをReference data base (RDB)として今後公開する上で、非常に有益な情報となることが示唆される。

研究論文用の病理組織画像としてVS画像は十分使用可能であることが確認できた。現状は、病変のルーペ像、弱拡大像が主体であるが、今後は中-強拡大像、免疫染色画像などの論文用病理画像の作成もVSにおいて行なえるか否か検討する必要があるものと考えられる。

#### E. 結論

VSのみで診断意見作成依頼登録された症例の診断意見作成は、ほぼ問題なく行なえた。

VS病理画像はPeer reviewが行なわれる学術雑誌資料として十分な品質を有する。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Tsuda H, Seki K, Hasebe T, Sasajima Y, Shibata T, Iwamoto E, Kinoshita T. A histopathological study for evaluation of therapeutic effects of radiofrequency ablation in patients with breast cancer. *Breast cancer* 18, 24-32, 2011
- 2) Hasebe T, Iwasaki M, Akashi-Tanaka S, Hojo T, Shibata T, Sasajima Y, Kinoshita T, Tsuda H. Atypical tumor-stromal fibroblasts in invasive ductal carcinoma of the breast. *Am J Surg Pathol* 35, 325-336, 2011
- 3) Hasebe T, Iwasaki M, Akashi-Tanaka S, Hojo T, Shimizu C, Andoh M, Fujiwara Y, Shibata T, Sasajima Y, Kinoshita T, Tsuda H. Atypical tumor-stromal fibroblasts in invasive ductal carcinoma of the breast treated with neoadjuvant therapy. *Hum Pathol* 42, 998-1006, 2011
- 4) Hasebe T, Iwasaki M, Akashi-Tanaka S, Hojo T, Shibata T, Sasajima Y, Kinoshita T, Tsuda H. Prognostic significance of mitotic figures in metastatic mammary ductal carcinoma to the lymph nodes. *Hum Pathol*; 42, 1823-1832, 2011
- 5) Hasebe T, Iwasaki M, Akashi-Tanaka S, Hojo T, Shibata T, Kinoshita T, Tsuda H. Modified primary tumor/vessel tumor/nodal tumor (PVN) classification for patients with invasive ductal carcinoma of the breast. *Br J Cancer* 105, 698-708, 2011
- 6) Hasebe T, Iwasaki M, Akashi-Tanaka S, Hojo T, Shibata T, Kinoshita T, Tsuda H. Important histological outcome predictors for patients with invasive ductal carcinoma of the breast. *Am J Surg Pathol* 35, 1484-1497, 2011

2. 学会発表  
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む)

- |           |    |
|-----------|----|
| 1. 特許取得   | なし |
| 2. 実用新案登録 | なし |
| 3. その他    | なし |

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）  
分担研究報告書

多施設共同臨床研究におけるVSの活用

研究分担者 白石泰三 三重大学医学系研究科腫瘍病理学 教授

研究要旨

ヴァーチャルスライドシステム（以下VS）の用途としては教育、コンサルテーションが主として考えられているが、機器の普及と共にその応用面の拡大が迫られている。がんワクチン療法の臨床研究に病理医として関与してきた立場から、この方面へのVSの応用について、利点および問題点を中心に検討した。

A. 研究目的

がんワクチン療法の適用には腫瘍細胞が標的となる抗原物質を発現していることが前提で、PCRあるいは免疫染色にて確認が行われるが、実際には後者の頻度が高い。がんワクチン療法参加施設で候補患者がみられた場合には腫瘍組織のパラフィンブロックが送付される。三種類の抗原に対し、四種類の抗体を用いた免疫染色を行い、陽性細胞の比率および染色強度の判定を行っている。染色標本はデータセンターで集中管理されるため、当講座に保存標本はなく、VS化している。

B. 研究方法

中央病理診断に送付された免疫染色標本を鏡検し、陽性と判定された症例をヴァーチャルスライド（VS）化する。VS上で免疫染色の評価、腫瘍の病理学的危険因子などの検索が可能か、再現性や有用性を検討する。

（倫理面への配慮）

がんワクチン療法自体は各参加施設で倫理委員会の承認を得ている。免疫染色標本は匿名化されており、ヴァーチャルスライドのファイルにも個人情報は含まれてない。

C. 研究結果

500以上の免疫染色標本がVS化されている。染色結果の判定自体は顕微鏡下で行ったが、標本作製枚数の軽減に役立っている。VS上での免疫染色は評価可能であった

が、定量性を目指すなら露出条件など撮像時の条件設定に工夫が必要であった。

D. 考察

後方視的に治療効果と免疫染色結果との相関を検討する場合にもVS化は有用と思われるし、将来的にはVS化画像上で染色結果の自動定量を目指す。VS標本の免疫染色結果解析ソフトの応用が望まれる。

E. 結論

多施設共同研究・臨床研究の方面でもVSの導入は有用性が高いと思われ、活用の範囲が広がった。実際に運用を開始すると、いくつかの問題点が見えてきた。これらの克服には運用面の改善のみでなく、使用用途を見据えた機器およびソフトの開発が必要と思われる。

F. 健康危険情報

該当せず

G. 研究発表

1. 論文発表

Kuroiwa K, Shiraishi T, Naito S; Gleason Score Correlation Between Biopsy and Prostatectomy Specimens and Prediction of High-grade Gleason Patterns: Significance of Central Pathologic Review. Urology, 77(2): 407-411, 2011.

Nagaharu K, Zhang X, Yoshida T, Katoh D, Hanamura N, Kozuka Y, Ogawa T,

Shiraishi T, Imanaka-Yoshida K;  
Tenascin-C Induces Epithelial-  
Mesenchymal Transition-like Change  
Accompanied by SRC Activation and FAK  
Phosphorylation in Human Breast Cancer  
Cells. AM J Pathol, 178(2): 754-763,  
2011.

## 2. 学会発表

白石泰三；VSを利用した病理医養成事業-  
事例紹介、第10回日本テレパソロジー・バ  
ーチャルマイクロスコープ研究会、平成23  
年9月、京都市

白石泰三；三重大学におけるテレパソ、日  
本遠隔医療学会、平成23年10月、旭川市

## H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

- |           |      |
|-----------|------|
| 1. 特許取得   | 該当なし |
| 2. 実用新案登録 | 該当なし |
| 3. その他    | 該当なし |

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）  
分担研究報告書

地域特性に対応したVS活用事例の集積と広報

研究分担者 有廣光司 広島大学病院病理部 教授

### 研究要旨

国内外で報告されているバーチャルスライド（VS）活用事例や工夫点などを収集・集約して、これらを基に広報、啓蒙、活用促進を行うことを目的として研究を開始した。その結果を踏まえて今後期待されるVS活用の選択肢の一つとして、VSで取込まれた画像データ全体の専用ソフトウェアによる画像解析の臨床応用への可能性と実用性を探った。その端緒として乳癌における治療方針の決定に不可欠であるコンパニオン診断としてホルモンレセプター、HER2及びKi-67の発現について多数症例を用いて検討した。すなわちKi67、estrogen receptor (ER)、HER2の免疫組織化学的染色標本をVSによりスキャンして、Definiens社の画像解析ソフトウェアTissueStudioを用いて標本全体の画像解析により再現性のある客観的な評価が可能であるかの評価を行い目視による評価結果と比較した。Ki67については無再発生存期間を指標にした場合、画像解析によるhigh+medium陽性細胞のcut-off値をROC curve解析に基づいて17%に設定すると強い有意差が見られた。

#### A. 研究目的

VS活用の選択肢の一つとして、VSで取込まれた画像データ全体の専用ソフトウェアによる画像解析の臨床応用への可能性と実用性を探ることが目的である。すなわち乳癌における治療方針の決定に不可欠であるコンパニオン診断としてホルモンレセプター、HER2及びKi-67の発現について多数症例を用いて検討する。殊にKi-67については病理医の目視による評価と画像解析による評価との比較、目視と画像解析によるデータと予後との関係の比較を行い、画像解析の有用性について検討する。

#### B. 研究方法

本学の女性乳癌症例で、術後5年以上の経過観察が可能な症例を対象に、各症例の主腫瘍のホルマリン固定パラフィン包埋切片でエストロゲンレセプター、HER2及びKi-67について免疫組織化学的染色を行い、組織切片全体をNanozoomer（浜松ホトニクス社）によりVSデータとして画像解析ソフトウェアDefiniens（CTC Lab社）を用いて解析した。同一標本について病理医の目視による評価を行い、VSデータとの比較と予後との相関の有無につい

て検討した。

（倫理面への配慮）

倫理的に、また利益相反に関しても特に問題は無い。

#### C. 研究結果

##### 1. 21年度の研究成果

既の上梓されている文献を全て把握するために、PubMedにおいて『virtual slide』をキーワードにして検索すると2009年6月時点で113件の文献がヒットした。VSに関連する報告は1997-1999年にはわずか3件であったが、2000-2004年には31件、2005-2009年には79件と急増していた。これは技術の進歩に伴い特殊で高額なVS関連機器が廉価になり、普及したためと考えた。2000年代前半では教育、遠隔診断、診断及びカンファレンスへの応用に関する報告が20件（64%）と過半数を占めていたが、2000年代後半では研究や精度管理を目的とした使用が増加していることが分った。この背景にはプレパラート切片全体をVSで画像データとして取り込みこれを画像解析するという解析システムの進歩があることが示唆される。教育、精度管理におけるVS応用の増加は今後の方向性を示しているようにも思える。すなわ

ちVSの画像分解能の限界や診断に適応可能な症例と不可能な症例に対する理解が深まったことで、VSの応用が典型例の組織像をモニター上で学習するという教育的な使用や、精度管理としての使用にシフトしてきた可能性がある。

## 2. 22年度の研究成果

VSデータの画像解析ソフトウェアによる検索をTissue image analysis (IA) (SlidePath社)、Definiens (CTC Lab社)、ScanScope (Aperio社)を用いて試行した。

Tissue image analysis (IA)による画像解析はwebを通してSlidePath社の設置する大型ホストコンピュータにアクセスして、画像データを送信して解析する方法を採用している。この方法の長所は各利用者が解析ソフトを購入しなくてもよいことと利便性である。短所は施設におけるLANの容量によって画像データの送信速度が規制されるため、データ処理に長い時間を要することである。Definiensを用いる長所は既存のVSシステムを使用できることと、他の画像解析システムよりも廉価で導入できることである。単独施設で使用する限り短所は目立たない。ScanScope (Aperio社)は解析行程には問題はないが、短所としては高価であり、既存のVSシステムを併用できないことであろう。

## 3. 23年度の研究成果

1) バーチャルスライド (VS) で取込まれた乳癌のバイオマーカーの画像データ全体を画像解析することの可能性と有用性を探った。すなわちKi67、estrogen receptor (ER)、HER2の免疫組織化学的染色標本をVSによりスキャンして、Definiens社の画像解析ソフトウェアTissueStudioを用いて標本全体の画像解析により再現性のある客観的な評価が可能であるかの評価を行い目視による評価結果と比較した。

Ki67については無再発生存期間を指標にした場合、画像解析によるhigh+medium陽性細胞のcut-off値をROC curve解析に基づいて17%に設定すると強い有意差が見られた。

ERについては画像解析の結果と目視による評価の間には有意な相関が得られたが ( $P < 0.001$ )、画像解析では陰性と判定

された症例がなかった。これは現行のソフトウェアでは非癌細胞と乳癌細胞を厳密に鑑別することが困難であり、非癌細胞における陽性像を判定したためである。

HER2については、同一腫瘍組織内に陽性細胞のintensityのばらつきが多いことと目視によるintensityの評価よりも精度の高い評価が可能であることが分かった。すなわち目視ではスコア0と判定した症例の中に画像解析ではスコア1+あるいは2+の症例が含まれていた。

2) VSの全切片を対象とした画像解析を日常業務の中に組み込むことが可能かどうかについて検討した。所要時間は1切片当たり30-60分間であり、バイオマーカーの種類と切片の大きさに依存した。そのため検索者がソフトウェアにかかりつきにならないようにする工夫が必要であり、夜間を利用して自動的に複数症例を解析できるようセットした。

## D. 考察

### 1. 研究成果の意義

乳癌治療におけるKi67の意義は、2011年に開催されたザンクトガーレンにおけるコンセンサスミーティングにて、乳癌のsubtype分類のためには必須となった。すなわち14%というcut-off値が提示され、そのcut-off値を境にして化学療法の適応の有無が分けられるにことになってしまい、Ki67による評価が更に重要になった一方で、cut-off値のみが一人歩きすることも危惧される。このような現状を踏まえてER(+)かつHER2(-)で化学療法が行われた症例を対象にしてKi67を画像解析により評価してvalidation studyを行うことで、より正確で再現性のあるcut-off値を算出することが可能であろう。

ホルモン療法の適応の有無についてERを対象とした画像解析により評価することの意義は現状では大きいとは言えない。なぜなら今回用いた画像解析ソフトウェアによる判定では偽陽性例が含まれ本来ホルモン療法の適応のない症例を適応例と判定する可能性があるからである。しかし良悪性の鑑別は病理形態学における根源的な問題であり、ホルモンレセプター偽陽性例を抽出するこのソフトウェアの有用性を否定するものではなく、解析

の対象とする症例を適切に選択することで有効な使用が可能である。

ハーセプチンの適応の有無については、現行ではHER2検査は3段階のスコアにより行われており、スコア2+ではFISHなどによる遺伝子増幅検査に委ねるので、画像解析による評価精度の追究がそれにかかる労力や時間に見合うだけの意義が大きいとは必ずしも言えない。しかしハーセプチンが臨床の場で投与された時から利用されている10%あるいは30%のcut-off値の妥当性については未だ十分な検討はなされていないことから今後画像解析によりintensityごとに陽性細胞の占拠率を算出し、ハーセプチン投与例を対象とするvalidation studyを行うことで真のcut-off値を設定することも可能であろう。

## 2. 今後の活用と発展性

乳癌のバイオマーカーを対象とするVSデータの画像解析ソフトウェアによる検索をがん診療の均霑化あるいは標準化にどのように応用するかについては2つのモデルが考えられる。

一つは各地域のがん診療連携拠点病院間での使用である。すなわち地域の基幹病院に画像解析ソフトウェアが設置され、バイオマーカーのプレパラート標本あるいはVSデータが送付され、解析後に依頼病院に結果を返送するというシステムを構築することで、地域全体の精度管理が可能となるであろう。現在、本学近在のがん診療連携拠点病院からのプレパラート標本を預かり解析を試行しており、今後その有用性や問題点についても報告する予定である。

更に画像解析の利便性を多くの医療者が享受するためにはVSデータをweb上で送信し大型ホストコンピューターで集中的に解析するクラウドシステムの構築が望まれる。この場合、VSシステムのない施設での画像データの作製、大容量の画像データの必要最小限データへの圧縮、画像データの送信方法、ホストコンピューターのグリッド化などによる処理能力の向上など解決すべき課題は多いが、病理学会や臓器ごとの学会、厚生労働省や病院評価機構などの行政関係に加えてコン

ピューターやソフトウェアやシステムのベンダー企業の協力が必須である。今後はこのシステムの実現に向けて検討を重ねる予定である。

## E. 結論

VSを用いた画像解析の長所を有効に利用する方向にシフトするべきであろう。

## F. 健康危険情報

該当なし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

野崎万莉、柿沢秀明、谷千尋、石川雅基、谷為恵三、稗田雅司、有廣光司、栗井和夫、CT ガイド下生検が確定診断に有用であった仙骨単発のランゲルハンス細胞組織球症の1小児例、臨床放射線、56(3):393-398, 2011.

Kuwabara T, Hiyama T, Tanaka S, Yoshihara M, Arihiro K, Chayama K. Genetic pathways of multiple esophageal squamous cell carcinomas. *Oncol Rep*, 25(2):453-459, 2011.

Shigematsu H, Kadoya T, Kobayashi Y, Kajitani K, Sasada T, Emi A, Masumoto N, Haruta R, Kataoka T, Oda M, Arihiro K, Okada M. A case of HER-2-positive recurrent breast cancer showing a clinically complete response to trastuzumab-containing chemotherapy after primary treatment of triple-negative breast cancer. *World J Surg Oncol*, 29(1):146, 2011.

小川勝成、有廣光司、気管支鏡検査におけるDiff-Quik染色標本を用いた迅速細胞診、*Medical Technology*, 39(3):273-277, 2011.

有廣光司、藤井将義、尾田三世、乳管内乳頭状病変、黒住昌史編：病理診断プラクティス『乳腺疾患』、中山書店、pp.185-191, 2011.



有廣光司、藤井将義、尾田三世、顆粒細胞腫、黒住昌史編：病理診断プラクティス『乳腺疾患』、中山書店、pp. 250-254, 2011.

## 2. 学会発表

有廣光司、治療標的分子の客観的評価と診断支援、診断ワークショップ（コンパニオン診断 —新たな時代の病理診断の課題）、日本病理学会、2011年4月、横浜市

有廣光司、乳癌バイオマーカーの画像解析ソフトを用いた客観的評価の有用性、パネルディスカッション：乳癌のbiological markerの病理学的判定と精度管理、第19回日本乳癌学会、2011年9月、仙台市

## H. 知的財産権の出願・登録状況 （予定を含む）

1. 特許取得 特になし。
2. 実用新案登録 特になし。
3. その他 特になし。

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
畑中豊、久保田佳奈子、松野吉宏	分子病理診断の標準化と精度管理	病理と臨床	29(4)	346-352	2011
松村翼、鎌滝章央、千葉岳、斉藤健司、元田敏浩、笠井啓之、熊谷一広、黒瀬顕、白石泰三、森谷卓也、澤井高志	日本におけるバーチャルスライドを利用したコンサルテーションシステムの開発	病理と臨床	29(9)	1027-1032	2011
黒瀬顕、澤井高志	バーチャルスライドの病理診断への有効利用—コンサルテーションシステムと症例供覧—	病理と臨床	29(12)	1314-1319	2011
中山育徳、松村翼、赤坂俊英、澤井高志	Virtual slide を利用した Teledermatopathology における新しいコンサルテーションシステムの開発	岩手医誌			投稿予定
Sawai T.	The present state of digital pathology in Asia.	J Pahol Inform			In press

飯嶋達生、松野吉宏	IT活用による次世代病理 バーチャルスライドシステムを用いた病理診断支援	病理と臨床	29(12)	1308-1313	2011
Yamashiro K, Tagami M, Azuma K, Nakamura A, Kato O, Taira K, Azum M, Kakeda H, Suzuki H.	Cytodiagnosis through use of a z-axis video by volunteer observers: a promising tool for external quality assessment.	Cytopathology	22	88-94	2011
Yamashiro K, Shinohara T, Mitsuhashi T, Sugimura T, Taira K, Azuma M, Okuyama D, Nakajima M, Takeda H, Suzuki H.	Z-axis video for cytology database (Zavic DB) is a useful tool for the case presentation prior to the cytology training workshop.	Diagn Cytopathology			2011 Jun 28 [Epub ahead of print]
Kuroiwa K, Shiraishi T, Naito S.	Gleason score correlation between biopsy and prostatectomy specimens and prediction of high-grade gleason patterns: significance of central pathologic review.	Urology	77(2)	407-411	2011
Shigematsu H, Kadoya T, Kobayashi Y, Kajitani K, Sasada T, Emi A, Masumoto N, Haruta R, Kataoka T, Oda M, Arihiro K, Okada M.	A case of HER-2-positive recurrent breast cancer showing a clinically complete response to trastuzumab-containing chemotherapy after primary treatment of triple-negative breast cancer.	World J Surg Oncol	29(1)	146	2011

## 分子病理診断の標準化と精度管理

畑中 豊\* 久保田佳奈子\*  
松野吉宏\*

## はじめに

タンパクや核酸分子の状態把握のために行われる免疫組織化学 immunohistochemistry (IHC) 法や *in situ* ハイブリダイゼーション *in situ* hybridization (ISH) 法は、ホルマリン固定パラフィン包埋検体 (FFPE 検体) を対象とした検索において日常病理診断上欠くことのできない検査手法となっている。1990年頃より普及が進んだ IHC 法は、2000年以降の自動化の流れにより、多くの施設でルーチン検査<sup>注1</sup>として本格的に導入され、現在では腫瘍鑑別や悪性度評価、病原体の同定等の補助診断法として一般化している。また分子標的治療の登場を契機に、IHC 検査や ISH 検査は治療対象患者の選別に用いられるようになった。こうした標的分子の有無や異常を検出する検査薬を治療薬と組み合わせて行う併用的診断はコンパニオン診断と呼ばれ、がん個別化医療の中心的役割を担っている<sup>1)</sup>。さらに近年、遺伝子変異検査などの体細胞遺伝子検査<sup>注2</sup>においても、FFPE 検体が利用されるようになり、対象材料 (パラフィンブロック) の選択、腫瘍細胞をエンリッチする場合の核酸抽出エリアの特定等に病理医が携わるようになった。最近では体細胞遺伝子検査を病理診断部門で実施、もしくは窓口となり外注するケースが増えつつある。こうした FFPE 検体を用いた検査が分子病理診断の柱をなす一方で、これら検査の標準化や精度管理は十分とはいえ、一部の検査項目を除き本格的な取り組みが必要となってきた。

本稿では分子病理診断で行われている検査のうち FFPE 検体を用いる検査にフォーカスし、それら検査における標準化や精度管理の問題点について述べるとともに改善に向けた取り組みについて紹介する。

\*北海道大学病院病理部/北海道大学大学院医学研究科分子病理診断学

## I. 分子病理診断に用いられる検査の現状

一般に検査は、プレアナリシス段階 pre-analytic phase, アナリシス段階 analytic phase, ポストアナリシス段階 post-analytic phase の三段階に大別され、検査の標準化を含め精度管理を実践する上で重要な分類となっている<sup>2-3)</sup>。これを踏まえ FFPE 検体を用いた分子病理診断として現在実施されている検査とそれらの各段階における作業を表1にまとめた。特にアナリシス段階において、組織切片上で反応を進める IHC 検査や ISH 検査は概ね手法が画一化されているのに対し、核酸抽出サンプルを用いて行う体細胞遺伝子検査では多くの手法が用いられており、状況が大きく異なる。これら検査の保険適用状況を表2に示す。分子病理診断において、コンパニオン診断を目的とした項目は、IHC 検査では estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PgR), HER2, EGFR, ISH 検査では HER2 のみとごく一部ではあるものの、これら検査は全て臨床妥当性が確認され標準化された体外診断用医薬品 *in vitro* diagnostics (IVD) が使用されており、また診療報酬点数表では個別の項目と保険点数が設定されている。一方、体細胞遺伝子検査の多くは IVD 未承認の研究用試薬で実施されており、点数表上は個

注1: 平成20年の診療報酬改定において病理診断が第3部 検査から第13部へ新設移行されたことに伴い、診療報酬点数表上は IHC 法や ISH 法を用いた検索は「染色」や「標本作製」の用語が適用されるようになったが、国際的にこれら検索には通常「test」や「testing」といった用語が用いられているため本稿では「検査」という用語を使用した。

注2: 日本臨床検査標準協議会 (JCCLS)・専門家委員会では、これまで一般に用いられてきた「遺伝子検査」の総称を「遺伝子関連検査」とし、さらにこれを「病原体遺伝子検査」「ヒト体細胞遺伝子検査」「ヒト遺伝学的検査 (生殖細胞系列遺伝子検査)」へと分類・定義したため、これらの用語を使用した。

表1 分子病理診断で用いられる検査とその段階別の作業

検査段階	〈組織タンパク関連検査〉 IHC 検査	〈組織遺伝子関連検査〉 ISH 検査	〈遺伝子関連検査〉 体細胞遺伝子検査
プレアナリシス段階 [作製作業]	検体採取 → 切り出し → ホルマリン固定パラフィン包埋ブロック作製		
	切片作製	切片作製	(切片作製 →) 核酸抽出
アナリシス段階 [解析作業]	IHC 法 ・前処理 (抗原賦活処理) ・検出 (染色)	FISH 法, BRISH 法 ・前処理 ・検出 (染色)	Direct sequence 法 Scorpion-ARMS 法 PNA-LNA PCR clamp 法 PCR-invader 法 Cycleave 法 Luminex 法 PCR-SSCP 法 など
ポストアナリシス段階 [判定・診断作業]	定性的判定 半定量的判定 定量的 (計数的) 判定	定量的 (計数的) 判定	各基準に準じた判定

[ ] は分子病理診断の場合の主な作業。

表2 主な分子病理診断関連の検査項目と保険適用

カテゴリー	〈組織タンパク関連検査〉 IHC 検査	〈組織遺伝子関連検査〉 ISH 検査	〈遺伝子関連検査〉 体細胞遺伝子検査
コンパニオン診断項目	第13部 N002 1 720点 ER (乳癌) 第13部 N002 2 690点 PgR (乳癌) 第13部 N002 3 690点 HER2 (乳癌・胃癌) 第13部 N002 4 690点 EGFR (大腸癌)	第13部 N005 2,500点 HER2 (乳癌・胃癌)	第3部 D004-2 1 2,000点 悪性腫瘍遺伝子検査 ・肺癌 (EGFR) ・大腸癌 (KRAS) ・GIST (KIT, PDGFRA)
補助診断項目	第13部 N002 5 400点 その他  ※4種類以上の抗体を用いた場合は1,600点を加算	第3部 D004-2 1 2,000点 悪性腫瘍遺伝子検査 ・骨軟部腫瘍  ※脳腫瘍や悪性リンパ腫なども対象となる場合がある	第3部 D006-6 2,400点 免疫関連遺伝子再構成 ・悪性リンパ腫 (IgH, TCR)  第3部 D004-2 1 2,000点 悪性腫瘍遺伝子検査 ・肺癌 (KRAS)

別項目化されていない。補助診断項目においてはこれらの検査においても IVD 承認品が皆無に近い状況にあり、その多くはやはり研究用試薬で実施されている。特に IHC 検査は、研究用試薬として市販されている特異抗体を入手すれば、検査として取り入れることが容易なことから、多くの施設で100項目以上の検索が日常行われており、そのため検査と研究の境界がわかりづらくなっている。

## II. IHC 検査の標準化と精度管理

### 1. IHC 検査の現状把握

本検査における標準化と精度管理については、前述のとおりコンパニオン診断項目と補助診断項目では状

況が大きく異なる。ER, PgR, HER2などのコンパニオン診断項目は、体外診断用医薬品の使用や標準化プロトコールの遵守などが進んだことで標準化は浸透し、現在取り組みの中心は検査の精度管理を含め、診断精度向上へと移行している(次項参照)。これに対し補助診断項目はその大部分が研究用試薬を用いて行われている上、抗原賦活処理や染色といったアナリシス段階の作業が各施設の状況に合わせカスタマイズされたために多様化してしまっており、研究手法のような検査形態をとっている。それゆえ補助診断項目部分の標準化は大きな遅れをとっているが、各項目の検査実施件数やその施設間差などの実態が把握できていない状況にあり、取り組みへの足がかりが見出しにくくなっている。

表3 IHC 検査実施件数の上位40項目

順位	IHC 検査項目	平均年間 実施件数	検査 占有率(%)
1	Ki-67	357	6.5
2	p53	243	10.9
3	cytokeratin (pan)	227	15.0
4	D2-40	223	19.0
5	CD20	213	22.9
6	CD3	209	26.7
7	estrogen receptor	195	30.2
8	progesterone receptor	187	33.6
9	HER2	173	36.7
10	CD34	149	39.4
11	CD79a	140	42.0
12	CD10	134	44.4
13	$\alpha$ -SMA	134	46.8
14	S100	132	49.2
15	CD68 (KPI, PGM1)	106	51.2
16	cytokeratin 7	104	53.0
17	BCL2	97	54.8
18	CD56 (NCAM)	95	56.5
19	p63	90	58.1
20	CD5	87	59.7
21	cytokeratin 20	82	61.2
22	synaptophysin	77	62.6
23	vimentin	75	64.0
24	chromogranin A	75	65.3
25	TTF-1	74	66.6
26	desmin	70	67.9
27	CK-HMW (34 $\beta$ E12)	63	69.1
28	CD31	54	70.0
29	EMA (E29)	49	70.9
30	CD117/KIT	48	71.8
31	cyclin D1	47	72.7
32	CK-LMW (CAM5.2)	46	73.5
33	PIN cocktail	42	74.3
34	CD30/Ki-1	41	75.0
35	myeloperoxidase	37	75.7
36	CD4	37	76.3
37	CEA	37	77.0
38	cytokeratin 5/6	36	77.7
39	kappa chain	36	78.3
40	lambda chain	36	79.0

こうした背景から、我々は厚生労働省が「がん診療を標準化するための病理診断基準の確立」に関する研究班(長谷川班)で平成19年度にパイロット調査を行い、さらにこれを踏まえ平成22年度に本調査を後継班であるがん研究開発費研究班(津田班)において実施した。この調査は国内24施設(このうちがん拠点病院は21施設)を対象にIHC検査項目別の実施件数に関する実態調査を行った。全対象施設から集計したIHC検査実施項目の総数は284項目(施設別の年間実施項目数では最少の施設は65項目、最多の施設は186項目)であった。284項目のうち上位

40項目とその累積検査占有率を表3に示した。上位項目にはコンパニオン診断項目(ER, PgR, HER2)が含まれるほか、補助診断項目では悪性度評価・良悪性鑑別(Ki-67, p53など)、脈管同定(podoplanin/D2-40, CD34など)、悪性リンパ腫、神経内分泌腫瘍、消化管間質腫瘍や軟部腫瘍の鑑別、原発臓器推定等に関わるマーカーやパネルが含まれ、パネルについては平成22年の診療報酬改定で1,600点加算の対象となっている(「N002 免疫染色(免疫抗体法)病理組織標本作製」に関する通知)。24施設の平均年間IHC検査実施件数は約5,500件で、上位30項目で全体の約70%、上位40項目で全体の約80%、上位60項目で全体の約90%を占めており、少なくとも上位40~60項目がルーチン検査上の必須項目とみなせるように思われた<sup>4)</sup>。

## 2. IHC 検査標準化への取り組み

IHC検査は長らく保険点数が低い状況が続き、さらにこの10年の自動化の浸透はさらに検査コストを上げることになり、検査現場ではコスト抑制のための技術的対応を余儀なくされていた。特に特異抗体試薬については、精度管理上予め最適化された ready-to-use (RTU) タイプの抗体試薬の使用が望ましいにもかかわらずコスト面から敬遠され、低コスト化が可能な精製抗体がこれまで好んで使用されてきた。つまり各施設での染色条件検討や希釈作業の実施、使用期限を越えた凍結保管など、試薬コスト抑制への努力が行われていた反面、これを人的コストでまかなうといった構造が続いていた。しかし平成22年の診療報酬改定でIHC検査の補助診断項目は400点への引き上げ、そして対象疾患が限定されているとはいえ4項目以上の場合は1,600点の加算とプラス改定が行われ、十分とはいえないものの、ようやく標準化の議論が可能な状況となった。今後はこれを契機に、コンパニオン診断用試薬と同様に、RTUタイプの抗体試薬の使用などが望まれる。またこうした試薬は、通常専用の抗原賦活処理試薬と検出試薬、そして完全自動化された免疫染色機との一体的使用が前提となっており、アナリシス段階の標準化では、これを念頭に置くことが肝要である。

一方規制面においても大きな問題が横たわっている。保険診療上実施される検査では体外診断用医薬品の使用が原則となっているが、RTU抗体を含め抗体試薬の多くは前述のとおり未承認のままとなっている。病理診断領域における先発品IVDの開発は、企業の研究者、対象疾患を専門とする病理医や臨床医、その他の医学研究者などにより進められ、治験・臨床

試験などにおける臨床有用性の確認(特コンパニオン診断薬の場合)、臨床性能試験ならびに安定性試験の実施を経て薬事申請を行い、最終的に承認取得となる<sup>5)</sup>。このとき承認品の添付文書には上記試験にて臨床妥当性が確認された検査手法が記載されることになり、遵守すべき標準化法となる。また後発品としてIVDが開発される場合も、先発品との相関性確認を行った後は概ね同様の流れとなる。しかしIVD承認された試薬がない項目ではこうしたプロセスを経ないため方法は標準化されないままとなり、未承認試薬間の性能差についても把握されないまま検査が実施されているのが実情である。

前述の上位項目のうち、補助診断項目でIVDとして承認が得られている項目は、CD20, CD3, pan-cytokeratin (CK), vimentin, S100, desmin, kappa/lambda chainなど10項目にも満たない状況であり、検査件数が多いKi-67やpodoplanin/D2-40をはじめ大部分の補助診断項目は今も研究用試薬として用いられている。現在市販されているRTU抗体試薬の多くは欧米で既に承認が得られたものが輸入されているため、染色性は一定レベル担保され実用上問題はないように思われるが、高額な規制関連コストや市場環境などの問題を抱える現状では、今後も本邦での承認申請は進まない状況が続くことが予想され憂慮すべき状況にある。

### 3. IHC検査精度管理への取り組み

一般に検査、特にアナリシス段階の精度保証 quality assuranceは施設内で検査手法の管理を行う内部精度管理 internal quality controlと検査データの施設間差の調査・管理を行う外部精度評価 external quality assessmentに大別され<sup>6)</sup>、両面での取り組みが不可欠となる。本邦のIHC検査においては、後者は十分に体制が整備されていないことから、精度管理は現状内部精度管理に頼らざるをえない状況となっている。アナリシス段階の内部精度管理には標準物質に相当する陽性コントロール組織の利用が重要となる。前述の津田班の調査研究の際に並行して行ったアンケート調査では、86%の施設がIHC検査時に陽性コントロール組織を使用しているものの、全てのIHC検査に対し行っている施設は14%にとどまっている。また陽性コントロール組織を使用する形態は、検体組織と同一スライド上に配置するかたちを採用している施設は50%、検体組織と陽性コントロール組織を各々染色するかたちを採用している施設は38%、両方を採用している施設は12%であった<sup>4)</sup>。

当院では2000年頃より全てのIHC検査において、検体組織と同一スライド上に陽性コントロール組織を配置する内部精度管理を開始し、2010年より組織マイクロアレイ(TMA)の利用を開始した。また津田班における研究の一環として、IHC検査実施件数上位項目に対応できる陽性コントロールTMAのデザインについて検討を行っており、搭載するコア数や組織の組み合わせについて全身主要臓器からなる組織マイクロアレイを作製し、データの集積を現在進めている(図1)。

### III. 組織ISH検査の標準化と精度管理

コンパニオン診断項目として実施されているHER2を除外すると、その他の項目は未だ研究的要素を残したまま検査が実施されており、標準化や精度管理は議論しにくい状況となっている。ISH検査のほとんど全ては現在FISH法で実施されている。自動化が中心となっているIHC検査とは異なり、アナリシス段階の多くの処理ステップは用手法で行われており、そのため、アナリシス・エラーを招来しやすい状況にはある。検査の成否はFISHシグナルの有無を検体組織中の内部コントロール細胞で確認することにより可能となることから、陽性コントロール組織は必ずしも必要とはならないが、検体組織でプレアナリシス・エラー(不適切な固定など)が起こっている場合には原因が特定できないことから、当院ではIHC検査同様、陽性コントロール組織を検体組織と同一スライド上に配置しFISH染色を行っている。

一方、ポストアナリシス段階においては、FISHシグナルのカウント作業は検査精度に大きな影響を与える要因の一つとなっている。ISH検査は遺伝子増幅の判定を行うほか、悪性リンパ腫や軟部腫瘍でみられる相互転座や脳腫瘍1p/19qのように染色体欠失を検出・判定する場合にも用いられる。判定方法にあたっては解析する腫瘍細胞数、陽性のカットオフ(異常細胞の割合)、相互転座判定については分離シグナル間の距離など基準設定が重要となるが、特に相互転座や染色体欠失の判定においては、検査基準に関するコンセンサスはほとんど得られていない。またFISHの判定は暗視野で限られたエリアのみを対象に行い、さらに解析対象となる細胞核は観察者の主観で判定することから、観察者間誤差を生じやすい。特に胃癌のHER2遺伝子増幅など組織にheterogeneityがみられる場合、暗視野の判定ではばらつきを生じやすくな

#### IV. 体細胞遺伝子検査の標準化と精度管理

近年大腸癌 KRAS 変異検査や肺癌 EGFR 変異検査など体細胞遺伝子検査において FFPE 検体を用いた検査が急増している。国内の体細胞遺伝子検査のアナリシス段階は、その大部分が大手検査センターにおいて集約的に実施されている状況にある。肺癌 EGFR 変異検査など検査項目によっては各検査センターで採用されている検査手法が異なるため、検査センターごとに検査の標準化が行われ、またこれに則った精度管理も日常厳密に行われている。それゆえこの段階の検査精度は現在のところ一定水準を維持しているといえる。一方で核酸を対象とする検査はとりわけプレアナリシス段階の影響を受けやすいことから、FFPE 検体の作製プロセスは検査の成否を決定する極めて重要な段階といえる。体細胞遺伝子検査では、抗体や核酸プローブとの反応性回復を目的とした賦活処理を行うことができないため、深刻な核酸断片化はそのままアナリシス段階の PCR 反応へ影響を与え致命的となる。それゆえホルマリン固定などにより受ける影響は賦活処理が可能な IHC 検査や ISH 検査に比べ大きいといえ、今後の FFPE 検体作製にあたっては遺伝子関連検査での使用も十分念頭に置き作業を行う必要がある。

こうした状況のなか、日本臨床検査標準協議会 (JCCLS)・遺伝子関連検査標準化専門委員会では、検体の品質管理による検査精度確保を目的とし「遺伝子関連検査の検体品質管理マニュアル」を策定し 2009 年に公表した<sup>7)</sup>。本マニュアルは 2009 年 2 月の厚生労働省の先進医療専門家委員会で先進医療申請において遵守すべき要件として採択されている。また現在、同委員会では産学からなるワーキンググループを設け、血液検体、喀痰検体、組織検体を柱とした遺伝子関連検査のプレアナリシスに関する情報収集と検証作業を行っており、本活動の一環として我々は組織検体に関する検討を進めている。この検証作業での課題の一つに、検体の品質に関する指標の設定が挙げられる。特に FFPE 検体の作製時に行われるホルマリン固定は核酸断片化への影響が大きく、検体の品質を事前評価できることが検査上望ましい。

現段階での核酸の品質管理方法として、DNA を評価する場合は、DNA 抽出サンプルをアガロース電気泳動で確認する方法や、既知 DNA 領域の PCR 増幅の成否をみる方法、リアルタイム PCR 法を用いた増

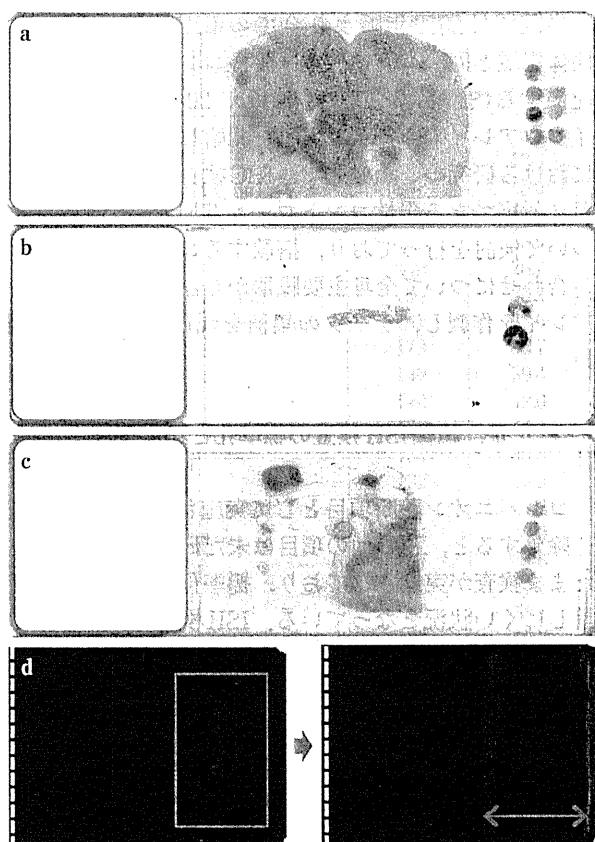


図1 内部精度管理用組織マイクロアレイ (TMA)

a, b: 現在試験的に作製・使用している補助診断項目用 TMA. 上位項目用は扁桃, 虫垂, 肝臓, 膵臓を含めた  $\Phi 2$  mm の 8 コア TMA で検討を進めている (a). また使用頻度の高い悪性リンパ腫マーカー用には扁桃と虫垂からなる  $\Phi 3$  mm の 2 コア TMA を使用している (b). これらの TMA は 1 週間分に相当する枚数をまとめて薄切し, スライドガラスに TMA を事前に載せた状態で保管するようにし負担軽減を図っている。

c, d: コンパニオン診断用は HER2, ER, PgR, EGFR の 4 項目をカバーした 4 コア TMA (乳癌 3 コアと大腸癌 1 コア) を作製し使用している (c). これらの項目ではより厳密な管理が求められるため, 薄切後の切片にパラフィンコーティング (d の両矢印, 写真ではカケンジェネックス社のパラメートを使用) を行い, 酸化による劣化を防止し, また長期保存可能な状態にしている。

る。最近では IHC 法と同様にアナリシス段階の完全自動化とポストアナリシス段階での明視野観察が可能となった明視野 ISH (bright-field *in situ* hybridization: BRISH) が HER2 など一部の項目で実用化され, 本邦でも先ごろ承認された。ISH 検査の標準化や精度管理上の利点の多い技術であることから今後の普及が見込まれる。



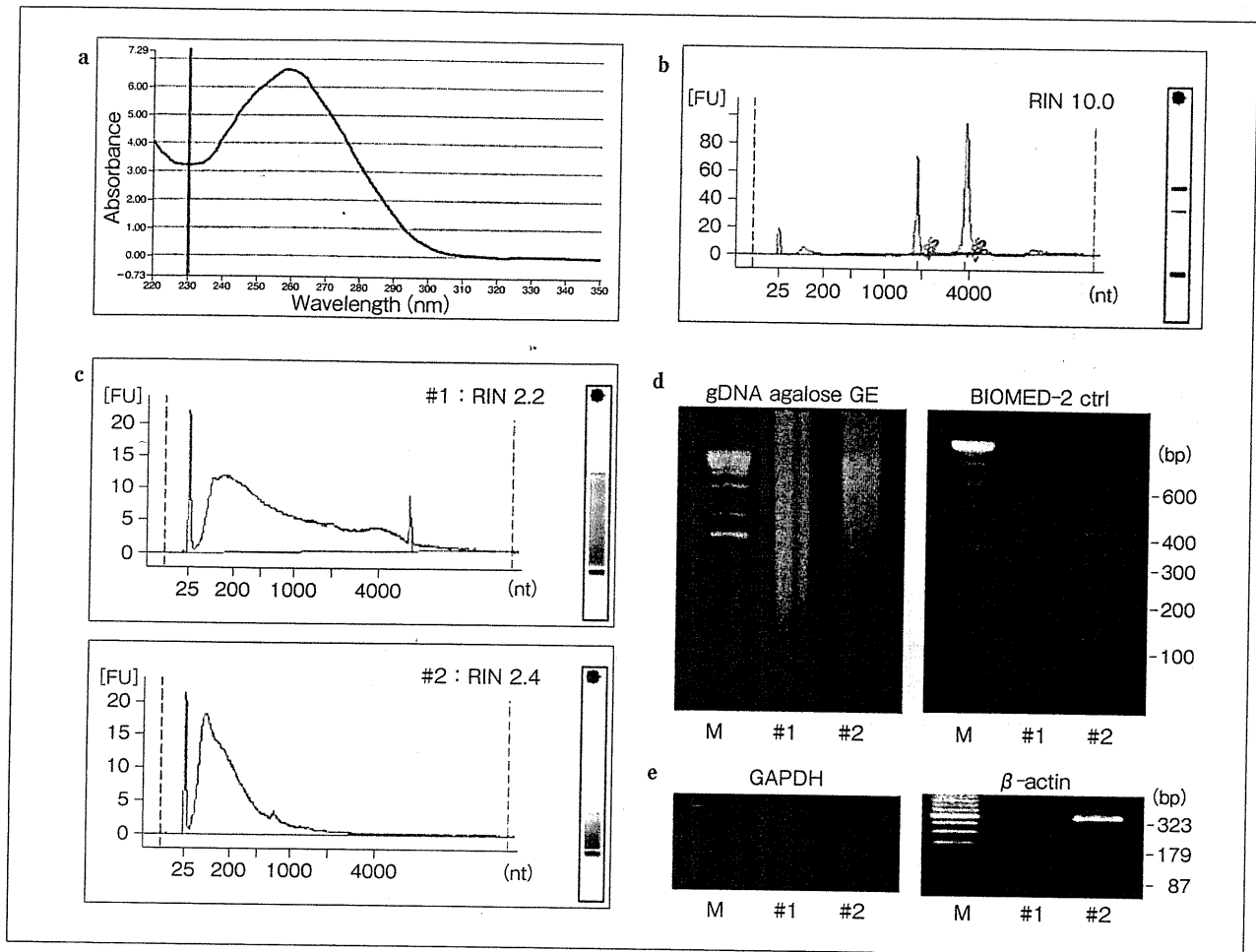


図2 核酸の品質評価 a: 吸光度 A260/A280 比による核酸品質確認。カラム法を用いた FFPE 検体からの DNA 抽出液では比はおよそ 1.9~2.1 となる (JCCLS・遺伝子関連検査標準化専門委員会調査)。抽出に問題があった場合は A230 の値が高値を示すため A260/A230 比が低くなる場合があるため、この比の確認も必要である。b: マイクロチップ型電気泳動装置を用いた RIN 値による RNA 品質確認。培養細胞などから良好に RNA 抽出ができた場合などは高い RIN 値を示す。c: RIN 値を用いた FFPE 検体等の品質確認。通常の FFPE 検体ではしばしば RIN 値は低値を示す (上段, #1)。核酸安定性が高いとされるアルコール系固定液 (ここではキアゲン社の PAXgene を使用) で固定したパラフィン検体でも RIN 値は同程度となり (下段, #2)、こうした検体の品質評価に RIN 値は適していないようである。d: DNA の品質確認。従来から用いられている抽出ゲノム DNA のアガロースゲル電気泳動と BIOMED-2 コントロール・プライマー・セットを用いたマルチプレックス PCR の結果。サンプル #1 に比べ #2 のほうが DNA 断片化の程度が低く、特に PCR の結果では 400bp のサイズの増幅で差が顕著である。e: ハウスキーピング遺伝子 RT-PCR による RNA の品質確認。GAPDH (108bp) と  $\beta$ -actin (87, 179, 323bp) のうち、長いサイズ ( $\beta$ -actin 323bp) において #1 と #2 間の差が確認可能である。

幅速度の状態により評価する方法が挙げられる。一方 RNA を評価する場合は、精製した RNA の純度を吸光度 A260/A280 比により確認する方法、rRNA, GAPDH,  $\beta$ -actin などのハウスキーピング遺伝子の発現状態を RT-PCR 法により確認する方法、28S/18S rRNA の比を確認する方法が知られている<sup>6)</sup>。近年マイクロアレイ研究の普及に伴い、解析サンプルの核酸断片化をみる指標として、RNA integrity number (RIN) 値の使用が研究領域で一般化しつつある<sup>8)</sup> (図

2)。RIN 値はマイクロチップ型電気泳動装置 (Agilent2100 バイオアナライザ) を用いて得られる 18S や 28S rRNA やその分解物のエレクトロフェログラムをデジタル解析し RNA の分解度をアルゴリズムにより算出した数値であり、RIN 値は品質の低い 1~高い 10 の 10 段階で表される。RIN 値はしばしば FFPE 検体の品質の確認に用いられるが、臨床材料で用いる場合には固定条件などが良く、保存状態が比較的良好な場合であってもしばしば低値を示すことから、新鮮材料の

わずかな品質劣化を検出する場合とは異なり、相対的に品質が低い FFPE 検体の場合はそのまま適用することは難しく、従来から用いられている方法のほうが品質の差を見極めやすい(図2)。欧州では FFPE 検体からの核酸抽出の多施設間比較に関する検討が、欧州委員会が支援する研究プロジェクトで行われている。この検討では DNA の品質の確認に欧州共同研究プロジェクト BIOMED-2 において検討された BIOMED-2 control gene primer set が使用されており<sup>9)</sup>、現在我々も検証に取り入れている。

#### おわりに

分子病理診断およびこれに用いられる検査は今後も拡大し重要性を増していくことは必至である。特に検査の件数はコンパニオン診断薬や診断に有用な新規試薬の開発・上市の急拡大とともに近年急速な伸びをみせている一方、それら検査の標準化や精度管理は大きな遅れをとっている。適切な分子病理診断はより正確な患者の層別化や治療の個別化を可能にし、これにより医療の質や効率化の向上、ひいては医療費削減などの医療経済面にも大きなインパクトを与える。こうした状況を踏まえ、分子病理診断で必要となる検査標準化・精度管理に関する体制づくりが急がれる。

#### 文 献

- 1) 畑中 豊, 松野吉宏: 治療薬開発およびコンパニオン診断薬との同時開発の現状と今後一体外診断用医薬品の開発と承認申請. 技術情報協会, 2010
- 2) Nakhleh, R.E.: What is quality in surgical pathology? J Clin Pathol 2006, 59: 669-672
- 3) 真鍋俊明, 三上芳喜: 病理の精度管理. 病理学と社会, 病理と臨床 2009, 27(臨増): 42-50
- 4) 畑中 豊, 松野吉宏: 未発表データ
- 5) 日本臨床検査薬協会(編): 体外診断用医薬品取扱い指針, 第5版, じほう, 東京, 2007
- 6) 大澤 進, 深津俊明, 永峰康孝 他: 臨床検査学講座 検査管理総論, 第4版. 医歯薬出版, 東京, 2010
- 7) 日本臨床検査標準協議会, 遺伝子関連検査標準化専門委員会(編): 遺伝子関連検査 検体品質管理マニュアル(暫定文書). 日本臨床検査標準協議会, 東京, 2009
- 8) Schroeder, A., Mueller, O., Stocker, S. et al.: The RIN: an RNA integrity number for assigning integrity values to RNA measurements. BMC Mol Biol 2006, 7: 3
- 9) van Dongen, J.J., Langerak, A.W., Brüggemann, M. et al.: Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. Leukemia 2003, 17: 2257-2317



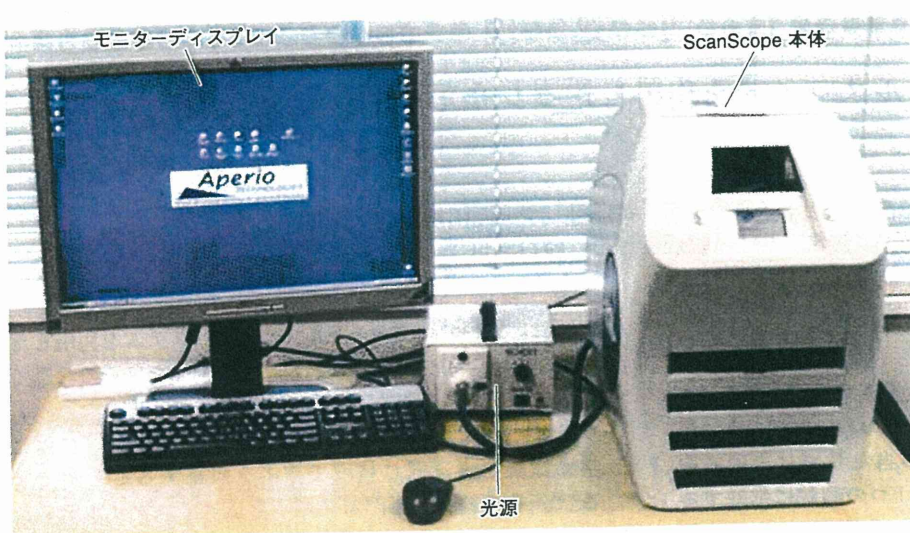


図1 バーチャルスライドシステム  
アペリオ社 ScanScope (CS).

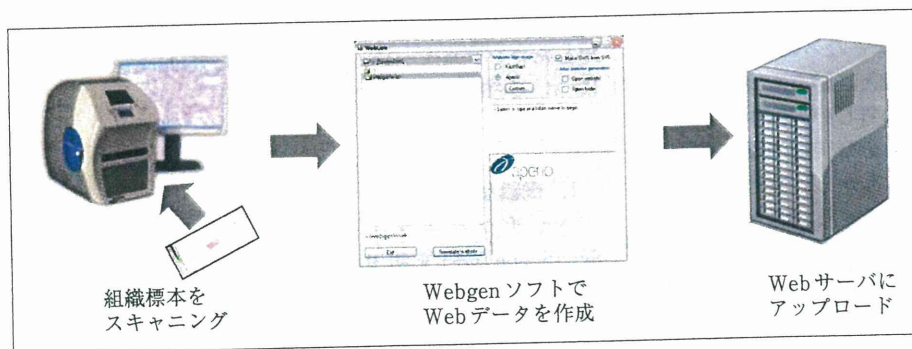


図2 VSデータ処理の流れ

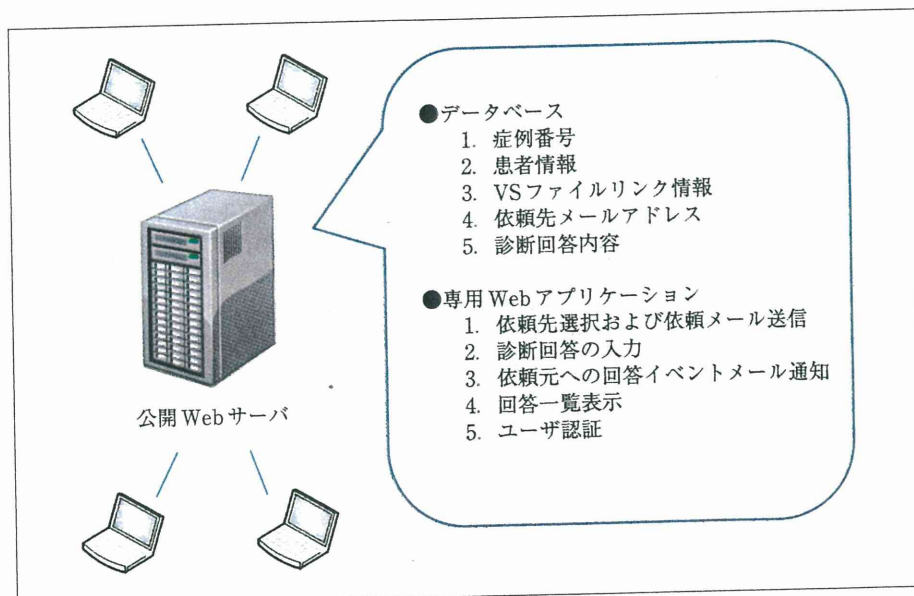


図3 システム仕様の概要

る WebScope を利用した (どちらもアペリオ社製)。その理由として、① ImageScope は Windows のみ対応しており、Macintosh では利用できない、② ImageScope で開く

VS データ自体を直接 Web 上で扱えない、③ ImageScope と同様に、WebScope であっても拡大、縮小、画像移動が可能で診断機能として十分機能することが挙げられる。今