

# 第 19 回

# FNA-Club Japan

日時 2021 年 8 月 28 (土) 15 : 00 - 17 : 00

Web 開催

当番世話人

岡山大学 光学医療診療部

加藤博也

FNA -Club Japan

# Information

## ご参加の先生方へ

1. 今回は完全 Web 開催となります。
2. まずはオンラインでの事前登録・および参加費お支払いをお願いいたします。

参加費は以下の通りです。

FNA-Club Japan 役員 5,000 円

医師・企業関係者 3,000 円

学生・看護師・メディカルスタッフ無料

参加登録は HP (<https://fnacj.com/>)をご覧ください

2. 参加登録・および参加費をお支払いした方は以下より入室可能です。参加登録後に付与されたID・パスワードを入力のうえお入りください。

研究会参加は HP (<https://fnacj.com/>)をご覧ください

3. 入室は14時30分から可能となります。
4. 写真・ビデオの撮影は禁止とさせていただきます。
5. オンラインでの質疑応答となります。チャット画面からご質問頂くか、手を上げる機能を使用して質問がある旨をお示し下さい。司会者が指名してからご質問をお願い致します。

## 顧問・世話人の先生方へ

1. 世話人会は14時00分からとなっております。(本会開始は15時00分)

世話人会の URL は以前にお送りしたのからお入りください。

2. 世話人の先生方は参加費5,000円となっております。

## ご発表の先生方へ

1. 一般演題の発表時間は1題あたり 5分(討論 5分)でお願いいたします。
2. 発表媒体は事前登録となっております。音声付き PPT(mp4)を下記 URL にアップロードしてご提出下さい。当方にて提出いただいた発表データは音声付き PPT を再生いたします。
3. オンラインで質疑応答にご回答下さい。
3. 写真等提示の際は、患者個人名が同定できぬようご配慮をお願いいたします。

# Time schedule

15:00～15:05

開会の辞

当番世話人 岡山大学病院 光学医療診療部 加藤博也

15:05～16:05

第一部:一般演題 (発表 5 分+質疑応答 5 分 6演題 合計 60 分)

座長: 東京大学医学部 光学医療診療部 中井 陽介  
和歌山県立医科大学 第二内科 蘆田 玲子

1. 当院における MSI 検査の現状について

和歌山県立医科大学 第二内科 田村 崇

2. EUS-FNA で行うがんゲノム診療～当院のデータから見えてくる現状と課題～

横浜市立大学附属病院 肝胆膵消化器病学教室 鈴木 洸

3. FNAB 検体を用いたゲノム医療を行う上での工夫

愛知県がんセンター 消化器内科 柳井谷駿史

4. 当院における胆膵癌に対する EUS-FNAB 検体を用いた遺伝子パネル検査の現状

東京大学医学部附属病院 消化器内科 石垣 和祥

5. EUS-FNA の検体を用いた胆道癌ゲノム解析～当院における検体処理の工夫

北海道大学大学院医学研究院 消化器内科学教室 平田 幸司

6. 膵 EUS-FNAB の細胞診上澄み検体を用いた KRAS 遺伝子変異検査の試み

ーがんゲノム診療に向けた新たな検体処理法への試みー

久留米大学病院 病理診断科・病理部 内藤 嘉紀

コメンテーター

愛知県がんセンター 消化器内科 原 和生  
京都第二赤十字病院 病理診断科 安川 寛

16:05～16:15 休憩

企業CM動画放映

オリンパス株式会社

コヴィディエンジャパン株式会社

ゼオンメディカル株式会社

センチュリーメディカル株式会社

富士フィルムメディカル株式会社

16:15～16:55

第二部：基調講演(40分)

座長：岡山大学病院 光学医療診療部 加藤 博也

「がん遺伝子パネル検査における微小検体の取扱い」

北海道大学病院 医療・ヘルスサイエンス研究開発機構

先端診断技術開発センター(C-DAD)

生体試料管理室(バイオバンク)/ゲノム・コンパニオン診断研究部門

畑中 佳奈子

16:55～17:00

総括発言

富山大学 第三内科 安田 一朗

17:00

閉会の辞・次回案内

次回当番世話人

# Abstract

## 1-1 当院における MSI 検査の現状について

和歌山県立医科大学 第二内科

○田村 崇、蘆田 玲子、田村 崇祥、川路 祐輝、糸永 昌弘、幡丸 景一、山下 泰伸、  
北野 雅之

【背景・目的】近年、ヒト化抗ヒト PD-1 モノクローナル抗体であるペムブロリズマブのように遺伝子検査に基づき癌腫を超えて使用できる抗癌剤が開発されている。ペムブロリズマブは、MSI(Microsatellite Instability)検査を行い、MSI-high(高頻度マイクロサテライト不安定性)を有する患者にのみ使用可能な免疫チェックポイント阻害剤である。当院では積極的に MSI 検査を行っており、特に胆膵疾患では EUS-FNA/B 検体を用いて MSI 検査が行われることが多い。今回当院の胆膵疾患における MSI 検査の現状について報告する

【方法】2019 年 4 月から 2021 年 6 月までに当院の胆膵疾患に対して MSI 検査を行った症例の提出検体について明らかにし、EUS-FNA/B 検体を用いて MSI 検査を行っている症例に対しては、その手技詳細についても明らかにする。また MSI-high を有する症例のうちペムブロリズマブを使用した経験についても報告する。

【結果】当院の胆膵疾患に対して MSI 検査を行った総数は 99 例であり、そのうち手術検体を用いたものが 44 例、EUS-FNA/B 検体を用いたものが 48 例、肝生検検体を用いたものが 4 例、内視鏡下生検の検体を用いたものが 3 例であった。原疾患は膵癌 78 例、胆管癌 15 例、胆嚢癌 4 例、乳頭部癌 2 例であった。

MSI 検査に EUS-FNA/B 検体を用いた 48 例の原疾患は、48 例すべて膵癌であった。穿刺部位は、膵鉤部 3 例、膵頭部 21 例、膵体部 14 例、膵尾部 7 例、リンパ節 3 例、平均腫瘍径  $26.4 \pm 7.8$  mm、穿刺針の種類は FNB 針が 33 例、FNA 針が 5 例、不明が 10 例であった。また穿刺針の太さは 22G が 47 例、19G が 1 例、穿刺回数  $2.7 \pm 0.9$ 、合併症は 1 例に急性膵炎が認められた。全例 MSI 検査は施行可能であり、EUS-FNA/B 検体においても MSI 検査は全例可能であった。

また MSI 検査を施行した 99 例のうち、MSI-high を有する症例は 3 例であった。原疾患は膵癌 2 例、肝内胆管癌 1 例であった。すべての症例に対してペムブロリズマブを使用しており、平均投与期間は 14.3 か月、治療効果は、RESIST 分類で CR が 1 例、SD 1 例、1 例は投与後すぐに原病悪化し治療困難となった。

【結論】MSI 検査は EUS-FNA/B 検体でも十分可能であり、MSI-high を有する症例は胆膵疾患全体のうち約 3%と少ないが MSI-high を有する症例では、ペムブロリズマブが有用であると思われ積極的に検査に提出することが推奨される。

## 1-2 EUS-FNA で行うがんゲノム診療～当院のデータから見てくる現状と課題～

横浜市立大学附属病院肝胆膵消化器病学教室<sup>1)</sup>

横浜市立大学附属病院がんゲノム診断科<sup>2)</sup>

○鈴木洸<sup>1)</sup>、長谷川翔<sup>1)</sup>、加藤真吾<sup>2)</sup>、栗田裕介<sup>1)</sup>、佐藤高光<sup>1)</sup>、細野邦広<sup>1)</sup>、中島淳<sup>1)</sup>、窪田賢輔<sup>1)</sup>

【背景】当施設では、本邦での保険適応前である 2016 年から、米国で開発された MSK-IMPACT を独自に導入し、積極的にがん遺伝子パネル検査を行ってきた。組織検体を用いたがん遺伝子パネル検査では、その検体の選択が重要である。非切除症例では、針生検などの微小検体を用いることが多く、検体の採取方法や採取後の処理に工夫が必要となる。当施設では、非切除例であっても、がん遺伝子パネル検査を患者が希望する場合は、積極的に EUS-FNA を施行してきた。今回は、当施設でがん遺伝子パネル検査用の検体採取目的に施行した EUS-FNA について Retrospective に検討し、方法と結果を踏まえ、当院の工夫と今後の課題について報告する。

【方法】2016 年 11 月から 2021 年 6 月までにがん遺伝子パネル検査の検体採取手段として EUS-FNA を施行した 25 例を対象とした。PET-CT 施行例においては FDG 集積が顕著な部位を目的病変の参考としている。FNA 穿刺針は基本的に 22G の Acquire®(Boston Scientific Japan)を使用し、穿刺法は 20 cc吸引法で 6 回穿刺している。検体提出は全てを 1 つのホルマリン容器に入れ、固定時間を 24 時間以内と決めている。FoundationOne®の標準作業手順書が複数ブロックからの検査提出を受け付けないため、検体をできるだけ 1 つのブロックにまとめて包埋している。浅めの薄切で HE 染色スライドを 1 枚のみ作成し、腫瘍量を評価した後、検査可能と判断した場合は検査へ提出している。検査へは、検体量のある限り薄切し、提出している。当施設では、がん遺伝子パネル検査を提出した検体の HE スライドを全て保管している。微小検体を用いて検査を施行し、結果が出た症例のうち、最も腫瘍含有量の少ない症例と比較することで検査結果が出るかどうかの目安としている。

【結果】原発臓器は膵癌 9 例、胆管癌 4 例、大腸癌 4 例、子宮頸癌 3 例、その他 5 例であった。25 例中 24 例(92%)で病理学的に癌細胞を確認できた。25 例のうち 5 例(20%)は腫瘍細胞の不足から、がん遺伝子パネル検査には適さないと判断し、検査も施行しなかった。その 5 例を除いた 20 例(80%)では全例解析が可能であった。穿刺部位ごとの解析可能であった割合は、胃が 10/13 例(76.9%)、D1 が 3/3(100%)、D2 が 4/5(80%)、食道が 4/5(80%)、直腸が 1/1(100%)であった。リンパ節への穿刺を対象としたのは 14 例で、そのうち 13 例(92.9%)で解析が可能であった。FNA 関連の偶発症は全例で認めなかった。しかしながら、解析可能であった症例全例で、治験を含めた新規治療につながるような遺伝子変異は特定できなかった。

【結語】EUS-FNA は、がん遺伝子パネル検査の検体採取法として有用かつ安全であると考えられた。特にリンパ節転移巣の採取は、より検出率が高い可能性がある。今後、EUS-FNA によるがんクリニカルシーケンスの解析能を上げ、さらに新規治療法につなげるためには、症例数の蓄積など更なる検討が期待される。

### 1-3 FNAB 検体を用いたゲノム医療を行う上での工夫

愛知県がんセンター 消化器内科

○柳井谷駿史、奥野のぞみ、石川将、山田真規、文原大貴、倉石康弘、桑原崇通、羽場真、水野伸匡、原和生

#### 【背景と目的】

包括的がんゲノムプロファイリング(CGP)が保険認可されて以降、膵胆道癌のCGPを試みる機会が多くなったが、EUS-FNAB 検体の採取法や取り扱いなど未だ不確定な要素が多い。今回我々は自験例をもとにゲノム医療を効率的に行う方法について検討し、今後のゲノム診療の一助となることを目的とした。

【方法】2019/10月～2021/6月に組織検体で遺伝子パネル検査を試みた膵胆道癌194例を後方視的に検討した。

#### 【膵癌の結果】

膵癌154例の内訳は、膵管癌129例/腺房細胞癌3例/腺扁平上皮癌2例/退形成癌4例/NEN13例であった。CGP目的で施行したFNAB:104検体で病理適格性の検討を行うと全体で61.5%(64/104)、19Gで80%(36/45)、22Gで50%(28/56)、25Gで0%(0/3)であり有意に大口径で適正率が高かった( $p < 0.001$ )。またFNA針で8.8%(6/17)、FNB針で66.7%(58/87)でありFNB針で有意に適正率が高かった( $p = 0.015$ )。19GFNB針の適正率は79.5%(35/44)であり手術検体80.8%(42/52)や肝生検84.2%(16/19)と比較しても有意差はなく( $p = 0.9106$ )、有効な検体採取法であると考えられる。

19GFNBで提出したCGP25例の内訳はF1CDx:56%(14例)、NCCオンコパネル:36%(9例)、MSK-IMPACT:4%(1例)、全エクソンシーケンス:4%(1例)であった。

CGP結果はactionableな変異はATM:4例、BRACA2:3例、FGFR2 fusion:2例、KRAS G12C:2例の7例認められ、FGFR2 fusion異常の2例が治験候補となった。またLynch症候群の1例がMSI-highであった。

【胆道癌の結果】胆道癌40例43検体の内訳は、肝内胆管癌20例/胆嚢癌11例/胆管癌7例/胆嚢NEC1例であった。病理適格性はFNAB73.7%(14/19)、手術90%(9/10)、肝生検71.4%(10/14)の結果であった。22G以上のFNB針であれば100%(13/13)でありFNABでも十分な検体が得られると考えられる。CGPの結果は29.6%(8/27)でactionableな変異を認め、FGFR2 fusion、TSC1、IDH1変異の3例で治験考慮された。またMMR欠損/MSI-highの症例は認めなかった。

【当院での工夫】FNAB検体の扱いについては変性を防ぐために、ROSEを行う際はすみやかに検体を冷却し、それ以外は直接ホルマリンに入れて提出するようにしている。またホルマリン固定時間は24時間以内になるように検査日を調整している。

検体の細胞密度を下げないように大口径FNBで穿刺する際は非吸引で行い、可能な限り血液が混ざらないように工夫を行っている。

【結語】遺伝子パネル検査では膵癌には大口径FNB針が適しており、胆道癌では22G以上のFNB針でも十分な検体が得られると考えられる。膵癌では不適格となった場合には、大口径FNB針を使用することで適正検体が得られる可能性があることが示唆された。手術検体と比べてFNB針での適正検体採取は劣らない結果となった。

胆道癌は膵癌と比較して適正検体が得られやすく、actionableな変異も多いため、今後CGPをより積極的に活用すべきと考えられる。

#### 1-4 当院における胆膵癌に対する EUS-FNAB 検体を用いた遺伝子パネル検査の現状

東京大学医学部附属病院 外来化学療法部<sup>1)</sup>

東京大学医学部附属病院 消化器内科<sup>2)</sup>

東京大学医学部附属病院 光学医療診療部<sup>3)</sup>

石垣 和祥<sup>1),2)</sup>、中井 陽介<sup>2),3)</sup>、猪熊 顕之<sup>2)</sup>、高岡 真哉<sup>2)</sup>、時任 佑里恵<sup>2)</sup>、福田 麟太郎<sup>2)</sup>、  
大山 博生<sup>2)</sup>、野口 賢作<sup>2)</sup>、金井 祥子<sup>2)</sup>、鈴木 辰典<sup>2)</sup>、白田 龍之介<sup>2),3)</sup>、齋藤 圭<sup>2)</sup>、  
齋藤 友隆<sup>2)</sup>、高原 楠昊<sup>2)</sup>、濱田 毅<sup>2)</sup>、水野 卓<sup>2)</sup>、木暮 宏史<sup>2)</sup>、藤城 光弘<sup>2)</sup>

[背景] 胆膵癌における遺伝子パネル検査 (以下パネル検査)の臨床的意義は確立されておらず、またパネル検査のための適切な組織採取方法は定まっていない。

[方法] 2018年7月より2021年6月にかけて当院でパネル検査を試みた64例中、EUS-FNAB 検体を用いてパネル検査に提出した20例について検討した。使用したパネルはNCCオンコパネル (NOP)・FoundationOne CDx (F1CDx)の他、東大オンコパネル (TOP)の臨床研究データも含めた。

[結果] EUS-FNAB 検体を用いてパネル検査を試みた20例の内訳は膵癌/胆道癌/混合型肝癌が16/3/1例。膵癌の5例 (22G FNB 針/22G FNA 針が4/1例)は病理医による検体のプレチェックをpassできなかった。パネル検査に提出できた症例は15例 (NOP/F1CDx/TOP 10/3/2例)で、使用した穿刺針は22G FNB 針/22G FNA 針/25G FNA 針が12/2/1例、穿刺回数中央値は3回 (範囲2-4回)であった。膵癌の14例は初回診断時の検体をパネル検査に提出し、2例は2nd line以降に血管周囲軟部影/リンパ節転移より検体を採取したが、腫瘍含有率が低く、プレチェックをpassできなかった。Actionable な遺伝子変異を2/15例 (13%)に認め (AKT1/BRCA2 1/1例)、2例 (13%)がTumor mutational burden (TMB)-highであった。BRCA陽性膵癌に対してPARP阻害剤を用いた1例のみが治療に繋がり、治療導入率は1/15 (6.6%)であった。パネル検査施行のタイミングは、1st line終了時/2nd line終了時以降が7/8例で、全て結果説明まで行うことができた。NOP 10例/TOP 2例の12例でDNA収量の評価が可能で、DNA収量中央値は1211ng (範囲175-6072) ngであった。

[結論]胆膵癌におけるパネル検査はEUS-FNAB 検体でも十分に行うことができる。現状での治療導入率は低いものの、actionable な遺伝子変異・TMB-highを13%ずつに認め、今後治療選択肢が広がる可能性がある。

## 1-5 EUS-FNA の検体を用いた胆道癌ゲノム解析～当院における検体処理の工夫

北海道大学大学院医学研究院 消化器内科学教室

平田幸司、栗谷将城

【背景・目的】胆道癌に対する超音波内視鏡下穿刺生検(EUS-FNA)は安全性が高く、経乳頭的生検が困難な胆嚢癌や転移性リンパ節からも組織採取が可能であるため、バイオマーカーの同定および分子標的治療の決定にあたり有用性が期待される。一方で、良質な解析を行うためには、適した組織採取の方法と、採取後の適切な処置が求められる。胆道癌に対して、EUS-FNA による組織採取から遺伝子解析まで実際に行い、EUS-FNA 検体を用いた胆道癌遺伝子解析の実用性、有用性および遺伝子解析までの過程の注意点について検討した。

【対象と方法】2013年9月～2018年4月の間、北海道大学病院で胆道腫瘍に対してEUS-FNAを施行し、病理学的に腺癌もしくは腺扁平上皮癌と診断された胆道癌症例を対象とした。高速シーケンサーを用いて、EUS-FNA 検体および同一個体の末梢血単核細胞から抽出したDNAのホットスポットパネルによる癌関連遺伝子の解析を行った。

【結果】胆道腫瘍原発および所属リンパ節に対しEUS-FNAを79例79病変に施行し、病理学的に腺癌もしくは腺扁平上皮癌と診断された51例のうち、腫瘍組織および末梢血が凍結保存されていた21例21病変の解析を行った。年齢中央値は66.5歳(範囲39-85歳)、胆嚢癌12例、肝内胆管癌6例、肝外胆管癌3例。採取組織のDNAは精製を行うことで全例で良好に抽出され、遺伝子解析が可能であった。平均リード長は119bp、平均リード深度は2855xであった。全体で39遺伝子のうち80のsingle nucleotide variant(SNV)および8のINDEL(挿入欠失)を同定し、これらの解析の結果14遺伝子のうち28の病原性変異を同定した(21例中20例(95.2%))。

【考察】EUS-FNAで得られる微小な組織からでも、高重複で塩基配列解析をおこなうことが可能であった。その要因として、解析対象となるライブラリの作成までのステップ、すなわちEUS-FNAにより採取した組織の迅速な評価、適切な保存や抽出したDNAの精製といった過程が重要であると考えられた。胆嚢癌や肝内胆管癌といった部位の胆道癌では、一般的な組織採取法である内視鏡的経乳頭生検で腫瘍組織を採取できないことがしばしばあるが、安全で十分な組織採取が可能なEUS-FNAという手技は、胆道癌症例の遺伝子解析において有用であると考えられた。

【結語】EUS-FNAで採取した微小な胆道癌組織に対してでも、質の高いターゲットシーケンスを行うことは可能であるが、そのために適した検体処理を行う必要がある。

## 1-6 膵 EUS-FNAB の細胞診上澄み検体を用いた KRAS 遺伝子変異検査の試み —がんゲノム診療に向けた新たな検体処理法への試み—

久留米大学病院 病理診断科・病理部<sup>1)</sup>

久留米大学医学部 内科学講座 消化器内科部門<sup>2)</sup>

久留米大学病院 がん集学治療センター<sup>3)</sup>

○内藤嘉紀<sup>1)</sup>、岡部義信<sup>2)</sup>、牛島知之<sup>2),3)</sup>、寺部寛哉<sup>2)</sup>、平井真吾<sup>2)</sup>、島松裕<sup>2)</sup>、  
高瀬頼妃呼<sup>1)</sup>、安倍秀幸<sup>1)</sup>、河原明彦<sup>1)</sup>、秋葉純<sup>1)</sup>

【はじめに】EUS-FNA から得られる組織は微小であるものの、安定した組織採取量が確保され始めたことで膵癌に対する「がんゲノム診療」が可能となってきた。しかしながら、「がん遺伝子パネル検査」は多くの未染スライドを必要とするため、組診断目的の追加標本作製が難しい状況となりつつある。そこで、今回我々は、SurePath 法 液状化検体細胞診(SP-LBC)の上澄み検体に浮遊している遊離 DNA(cfDNA)を用いた KRAS 遺伝子変異の検査を行い、追加標本作製を必要としない病理診断体系の構築に向けての基礎的検討を行ったので報告する。

【対象と方法】対象は久留米大学病院で膵病変に対して EUS-FNAB を実施し、CytoRich Red 固定液を用いた SP-LBC による検体処理を行った 50 症例とした。症例内訳は、膵腺癌(PDAC) 42 症例、non-PDAC 8 症例であった。上澄み検体中に浮遊する cfDNA を抽出し、KRAS 遺伝子変異の解析を行った。また、組織検体を用いた KRAS 遺伝子変異検査との比較検討も行った。

【結果】50 症例中 42 症例(84%)で上澄み検体から cfDNA が抽出された。PDAC 42 症例中 38 症例(90%)で cfDNA が抽出されたが、non-PDAC は 8 症例中 4 症例(50%)と有意に低値であった(P=0.004)。cfDNA が得られた PDAC 38 症例中 24 症例(63%)で KRAS 遺伝子変異が確認されたが、non-PDAC 症例では KRAS 遺伝子変異は確認されなかった。尚、上澄み検体と組織検体の間で、KRAS 遺伝子変異パターンに相違はなかった。

【まとめ】本検討では、通常診療で廃棄される LBC 上澄み検体に KRAS 遺伝子検査が実施可能な cfDNA が含まれている事を示すことができた。今後は、「がんゲノム診療」に必要な組織標本を確保するために、LBC 上澄み検体を用いた診断体系の構築についても検討を進めたい。