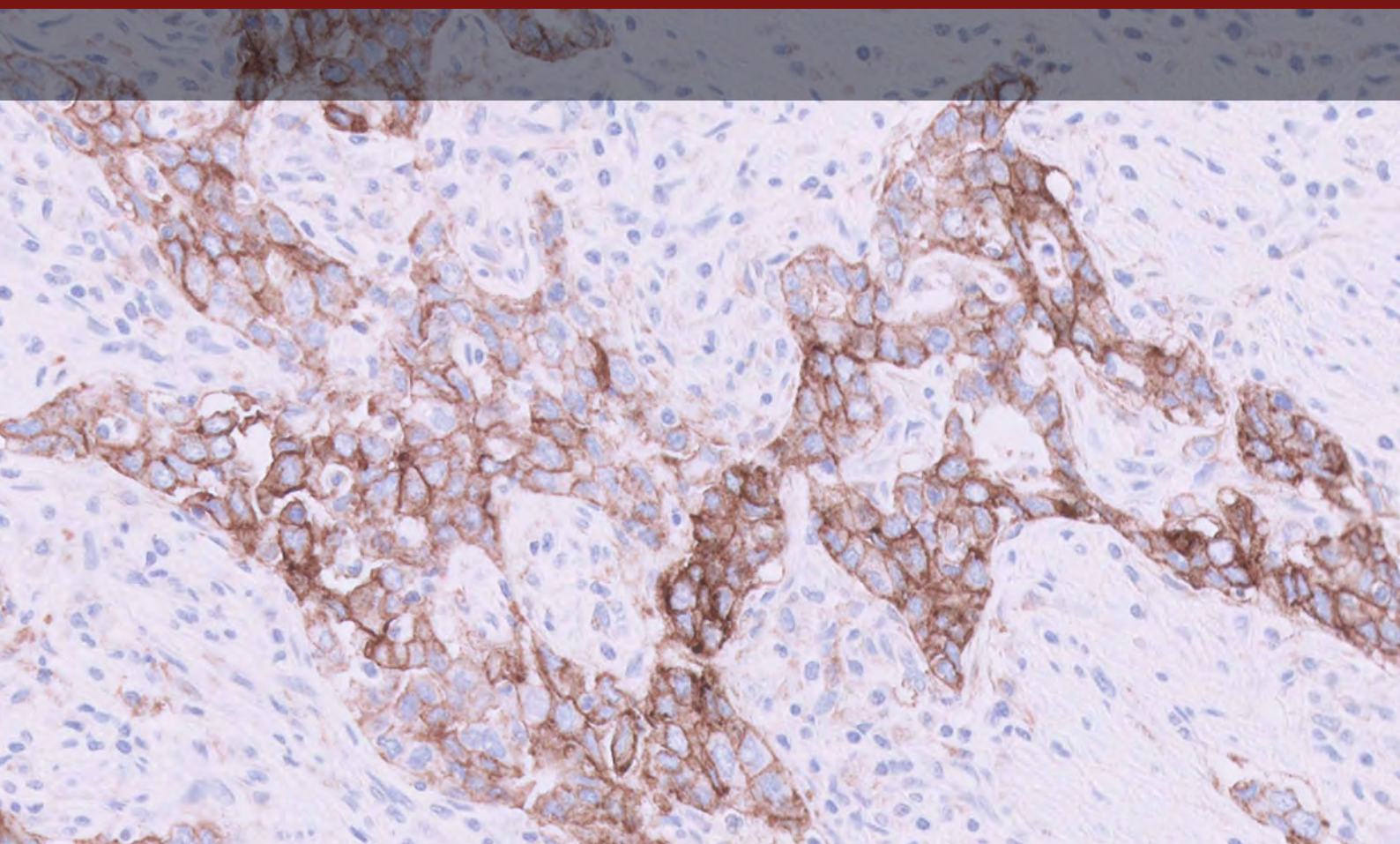


PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」の 胃癌染色結果判定マニュアル

体外診断用

体外診断用医薬品 承認番号：22800EZ00078000



目次

使用目的	04
はじめに	06
技術的留意点	08
検体の準備	08
染色精度管理のためのコントロール	08
コントロール組織	08
追加（オプション）の施設内コントロール：扁桃組織	09
組織の処理	09
スライドの評価	10
一般的留意点	10
組織の評価基準	10
コントロールの評価	11
スライド評価フローチャート	17
Combined Positive Score (CPS)	18
Combined Positive Score (CPS) の定義	18
CPS の分子の組み入れ/除外基準	18
Combined Positive Score (CPS) の決定	19
推奨方法	21
CPS の判定	23
結果の報告	24
Combined Positive Score (CPS) の要約および症例	25
PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」での染色結果判定における注意事項	25
胃癌症例のさまざまな染色像とその解釈	26
アーチファクト	52
PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」染色症例	62
コントロールスライド（CCL）付録	82
参考文献	94

使用目的

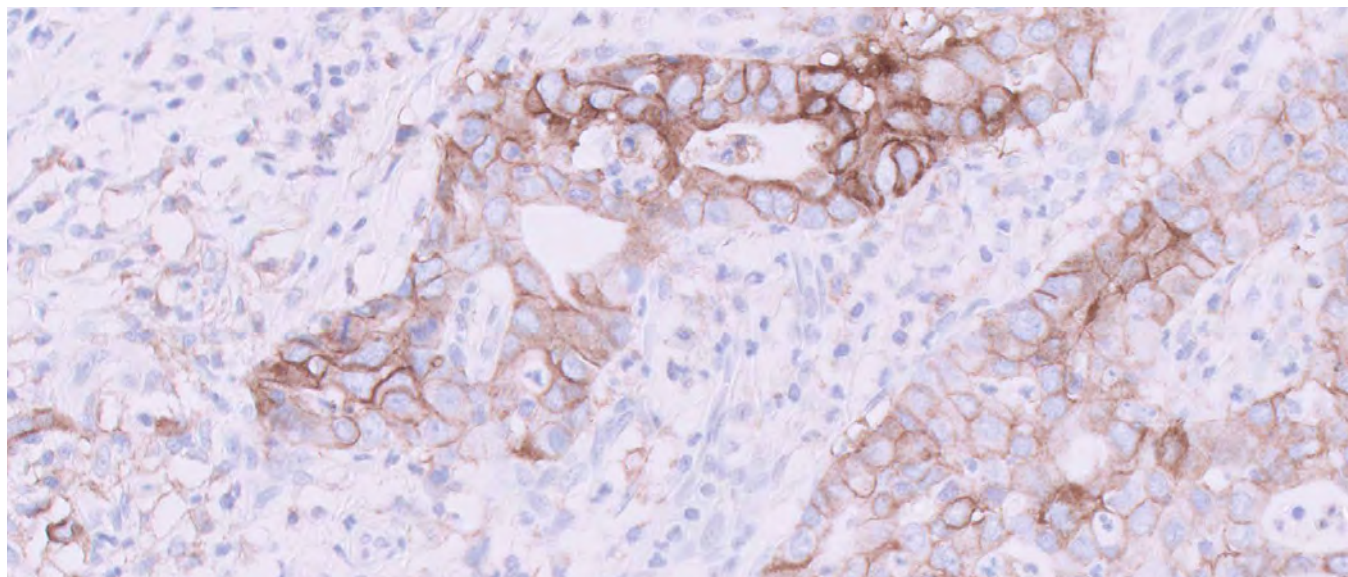
体外診断用医薬品

がん組織、細胞中の PD-L1 発現率の測定（胃癌患者におけるペムブロリズマブ（遺伝子組換え）の適切な投与を行うための補助に用いる）。

重要な基本的注意事項

1. PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」で PD-L1 発現率を測定し、HER2 陽性の胃癌患者におけるペムブロリズマブ（遺伝子組換え）の投与の可否を判断すること。
2. PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」で PD-L1 発現率を測定し、HER2 陰性の胃癌患者におけるペムブロリズマブ（遺伝子組換え）の投与の可否を判断することが望ましい。
3. HER2 陰性の胃癌患者におけるペムブロリズマブ（遺伝子組換え）の投与の可否を判断するにあたり、PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」を用いて PD-L1 発現率を測定することができない場合には、ペムブロリズマブ（遺伝子組換え）の添付文書等を参照の上、投与の可否を適切に判断すること。

その他の適応症に関する説明については、PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」（型番：SK00621-5J）の最新版の添付文書を参照してください。



はじめに

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」は、キイトルーダ（ペムブロリズマブ）の投与により臨床効果が高まる可能性のある胃癌患者を特定することができる、厚生労働省が承認した唯一の PD-L1 アッセイです¹。この染色結果判定マニュアルは、病理医や検査担当者が、ホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）胃癌検体における PD-L1 発現率を、正確かつ再現性のある結果として評価できるようサポートするための資料です。PD-L1 発現の評価は、キイトルーダ治療に適した胃癌患者選定の補助に役立ちます。

このマニュアルでは、高品質な染色と診断評価が得られるよう、PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」の判定法を詳述します。PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」を用いた胃癌検体の染色のスコアリングに必要な事項を十分に知って頂くために、さまざまな PD-L1 発現率の症例を参考として紹介しています。PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」によって染色されたこれらの胃癌症例ならびに評価基準を熟知することで、ご施設においても再現性と信頼性の高い結果を出すことができます。

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」は、定性的な免疫組織化学染色法を原理とするアッセイキットです。胃癌における PD-L1 発現率は、PD-L1 抗体で染色された PD-L1 陽性細胞（腫瘍細胞、リンパ球、マクロファージ）の数を総生存腫瘍細胞数で割り、100 を掛けた Combined Positive Score (CPS) を用いて決定します。

PD-L1 で染色された胃癌検体は、Combined Positive Score (CPS) に基づき、その発現率をスコアリングされます。

染色と判定方法についての詳細は、PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」（型番：SK00621-5J）の最新版の添付文書を参照してください。

キイトルーダ®は、Merck & Co., Inc.の子会社である Merck Sharp & Dohme LLC の登録商標です。

結果の判定

いかなる染色性および非染色性の臨床的解釈は、適切なコントロールを評価することにより補完されるものです。評価は、患者の病歴や他の検査結果をふまえて、病理医が行う必要があります。本製品は、体外診断用医薬品です。

結果の報告

治療担当医師に報告すべき情報については、本マニュアル 24 ページの「結果の報告」の章を参照してください。

顕微鏡写真

別途記載のない限り、掲載されている顕微鏡写真は胃癌のものです。

注意事項: 顕微鏡写真の倍率は、画像サイズの調整のため、それぞれの注釈で表示されている値とは異なって見える可能性があります。

技術的留意点

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」キットを用いた検査は、その染色工程のみならず、検体の前処理工程からも大きな影響を受けます。本章では、検査を正しく実施して頂くため、製品の特性と技術的留意点についてご確認ください。

検体の準備

検体は免疫組織化学染色に適した処理を施されたものでなくてはなりません。形態が保たれ、評価するのに十分な数の腫瘍細胞が含まれていることを確認してください。すべての検体は、病理検査の標準的な方法で処理してください。

染色精度管理のための コントロール

染色ごとに、以下の染色精度管理コントロールを含めてください。

- － PD-L1一次抗体で染色した本品中のコントロールスライド（CCL）
- － 一次抗体および一次抗体陰性コントロール（NCR）で染色された施設内陽性および陰性コントロール組織
- － 一次抗体陰性コントロール（NCR）で染色した各患者検体の連続切片

施設内コントロール組織

施設内における検体の前処理工程（プロセッシングや包埋等）の差異が、結果に大きな影響を与える可能性があります。実施に際し、染色ランごとに、本品中のコントロールスライドに加え、施設内陽性および陰性コントロール組織を立ててください。

適切なコントロール組織に関する詳細は、PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」の添付文書を参照してください。施設内コントロール組織の固定、プロセッシング、パラフィン包埋は、患者検体と同様に実施してください。患者検体と異なる方法で処理されたコントロール組織では、試薬の性能を（本品中のコントロールスライドでのみ）評価できても、組織の前処理工程の妥当性を確認することはできません

各施設でご用意いただく陽性コントロール組織には、弱から中等度の細胞膜染色を呈する腫瘍細胞および腫瘍関連単核炎症細胞（MIC: リンパ球とマクロファージ）が含まれることが理想的です。理想的な陰性コントロール組織では、腫瘍細胞および免疫細胞は染色されません。しかし、免疫細胞上では PD-L1 の発現率が高いため、わずかに染色された免疫細胞が含まれることは、許容範囲内です。

追加（オプション）の施設内 コントロール：扁桃組織

扁桃組織は、一次抗体で染色すると陰窩上皮が多数強度に染色され、胚中心では濾胞性マクロファージが弱から中等度に染色されます。コントロールに用いる場合には、あらかじめ扁桃組織の染色性を確認してください。内皮細胞、線維芽細胞、表層上皮には PD-L1 発現を認めません。

組織の処理

FFPE 組織での使用は評価済みです。検体は 3 ～ 4 mm に切り出し、ホルマリンで固定し、アルコールでの脱水、キシレン置換を経て、パラフィン浸透させます。パラフィンの温度は 60 °C を超えないようにしてください。NSCLC 組織サンプルにおいて、10 % 中性緩衝ホルマリンで 12 ～ 72 時間の固定で利用できることが確認されています。固定が 3 時間以下の組織検体は本検査には使用しないでください。脱灰や、他の固定液を使用して処理された組織の評価は実施されおらず、推奨できません。

組織検体は 4 ～ 5 μm に薄切します。薄切後、切片を推奨する適切なスライドガラス (Superfrost Plus slides 等) に拾い上げ、58 \pm 2 °C で 1 時間ベーキングします。抗原性を維持するためにも、未染スライドを保存する場合には、2 ～ 8 °C の冷暗所（推奨）または、25 °C 以下の室温暗所で保存してください。各適応症および温度条件に応じて、添付文書で指定された期間内に染色してください。

アッセイキットの保管と染色手順についての詳細は、PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」（型番：SK00621-5J）の最新版の添付文書を参照してください。

スライドの評価

一般的留意点

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」の結果は、光学顕微鏡を用いて観察し、病理医が判定してください。スコアリング方法については、23 ページを参照してください。患者組織検体の判定に先立ち、全てのコントロールスライドで染色性の妥当性を確認してください。

最も信頼できる検査結果を出すために、3 枚の連続切片を作成し、HE、一次抗体染色、一次抗体陰性コントロールでの染色を実施してください。HE 標本で検体の適性が確認できれば、残りの連続切片も同一の組織品質を担保されることになります。

本品中のコントロールスライドは、ランごとに必ず 1 枚染色してください。コントロールスライドの評価方法は 19 ページに記載されています。また、施設内コントロールスライドもランごとに染色してください。

組織の評価基準

生存腫瘍細胞が 100 個以上あることを確認

まず組織の HE 染色を実施して、組織型（組織形態）および、検体の適性を確認してください。HE 染色と PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」での染色には、同ブロックから作製された連続切片を用いてください。組織検体は形態が保たれており、保存状態がよいものである必要があります。また、適応腫瘍を確認してください。

腫瘍細胞が 100 個に満たない場合には、正しく評価できないと判断し、検体不適としてください。

腫瘍細胞が 100 個 未満の検体

ブロックを深く切り込むことで必要な腫瘍細胞を得られたり、別のブロックを採用することで十分な細胞を得られる場合があります。

コントロールの評価

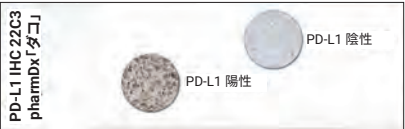


図 1: 本品中のコントロールスライドには、PD-L1 発現陽性と陰性の細胞が含まれています。

本品中のコントロールスライド（CCL）

本品中のコントロールスライドを観察し、試薬の性能に問題がないかを評価してください。本品中のコントロールスライドには、PD-L1 発現陽性ならびに陰性のセルブロック切片（ペレット）が貼付されています（図 1）。両方の細胞中の陽性細胞の割合、染色強度、および非特異的染色を評価します。コントロールスライドの染色性が不十分だと判断された場合には、同ランで染色されたすべての患者検体の評価は行わず、無効とみなします。本品中のコントロールスライドを、結果の解釈に使用しないでください。

下記のガイドラインに従って、染色強度をスコアリングしてください。

0	陰性
1+	弱陽性
2+	中等度陽性
3+	強陽性

陽性コントロール細胞

以下の染色性を満たしている場合、PD-L1 陽性とします（図 2）。

- － 70 % 以上の細胞が細胞膜染色を呈する
- － 細胞膜の平均染色強度が 2+ 以上である
- － 非特異的染色強度が 1 + 未満である

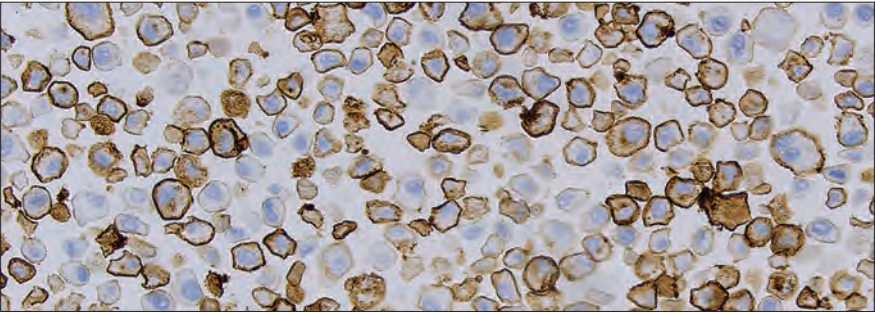


図 2: 本品中のコントロールスライド（陽性コントロール細胞）の染色性（対物レンズ 20 倍）

陰性コントロール細胞

以下の染色性を満たしている場合、PD-L1 陰性とします（図 3）。

- － 細胞膜染色を呈する細胞を認めない*
- － 非特異的染色強度が 1 + 未満である*

* いくつかの MCF-7 細胞がまれに染色される場合があることに注意してください。次の許容基準が適用されます。明らかな細胞膜染色を呈する細胞が 10 個以下、かつ/または MCF-7 細胞ペレット内にみられる 1+ 以上の非特異的染色は許容されます

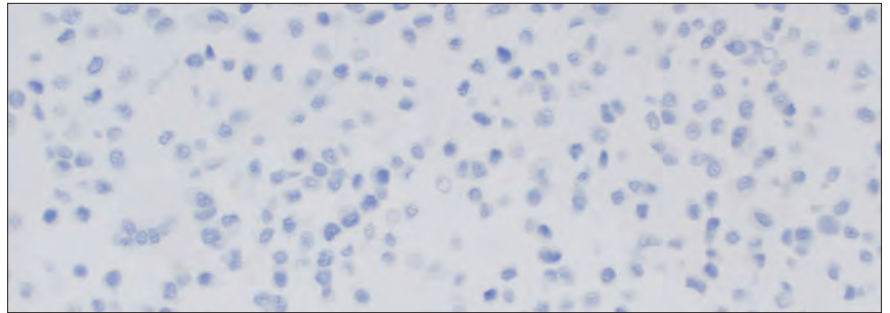


図 3: 本品中のコントロールスライド（陰性コントロール細胞）：細胞は染色されていない。（対物レンズ 20 倍）

コントロールスライド染色の合格、ボーダーライン、不合格の画像は、82 ページのコントロールスライド（CCL）付録を参照してください。

施設内陽性および陰性コントロール組織

陽性コントロール組織スライドを観察し、固定方法および抗原賦活処理が有効であることを確認します。陽性コントロール組織スライドは、PD-L1 一次抗体および一次抗体陰性コントロール (NCR) で染色する必要があります。陽性コントロール組織には、弱から中等度の細胞膜染色を呈する腫瘍細胞および腫瘍関連単核炎症細胞 (MIC) が含まれることが理想的です (図 4)。既知の陽性組織コントロールは、検体の前処理および試験試薬の妥当性をモニタリングするためにのみ使用し、患者検体の診断を行う補助として用いることはできません。

- PD-L1 一次抗体で染色したスライドの要件：茶色の細胞膜染色が観察される。スコアリング可能な腫瘍領域内の核染色を含む非特異的染色は $\leq 1+$ である
- 一次抗体陰性コントロールで染色したスライドの要件：細胞膜染色なし。スコアリング可能な腫瘍領域内の核染色を含む非特異的染色は $\leq 1+$ である

検査室が提供する陽性コントロール組織の染色性が不十分だと判断された場合には、同ランで染色されたすべての患者検体の評価はせず、無効とみなします。

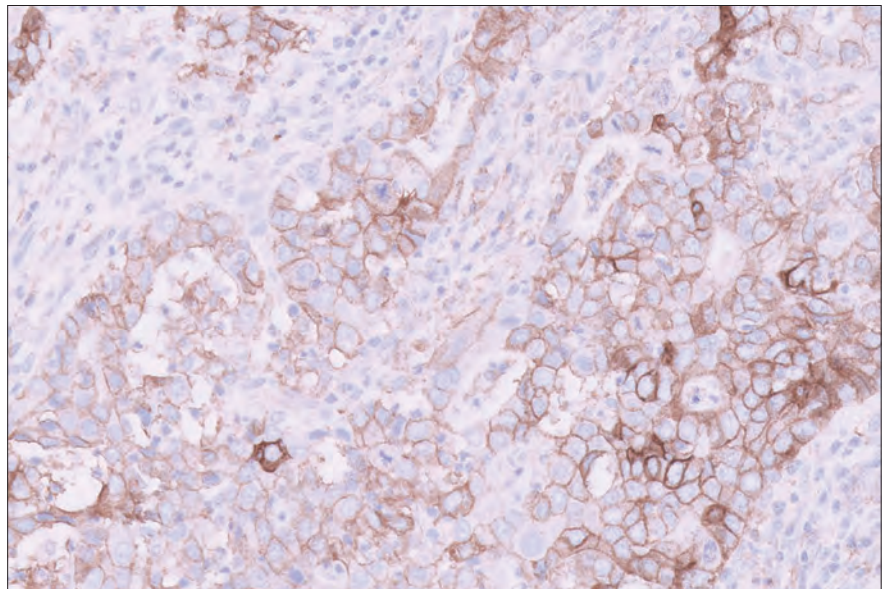


図 4: PD-L1 一次抗体で染色した、理想的な施設内陽性コントロール組織（胃癌）（対物レンズ 20 倍）

陰性コントロール組織スライドを観察し、一次抗体による標的抗原の標識の特異性を確認します。陰性コントロール組織スライド（PD-L1 陰性症例）を、PD-L1 一次抗体および一次抗体陰性コントロールで染色する必要があります。理想的な陰性スライドでは、腫瘍細胞および免疫細胞は染色されません（図 5）。しかし、免疫細胞上では PD-L1 の発現率が高いため、若干の染色は許容範囲内です。

注意事項: 別の方法として、陽性コントロール組織内の陰性部位を陰性コントロール組織として使用することができますが、これは検査担当者が判断してください。

- － PD-L1 一次抗体で染色したスライドの要件：腫瘍細胞に細胞膜染色なし。スコアリング可能な腫瘍領域内での核染色を含む非特異的染色は $\leq 1+$ である
- － 一次抗体陰性コントロールで染色したスライドの要件：細胞膜染色なし。スコアリング可能な腫瘍領域内での核染色を含む非特異的染色は $\leq 1+$ である

施設内陰性コントロール組織の染色性が妥当ではないと判断された場合には、同ランで染色された患者検体の結果を無効とみなします。

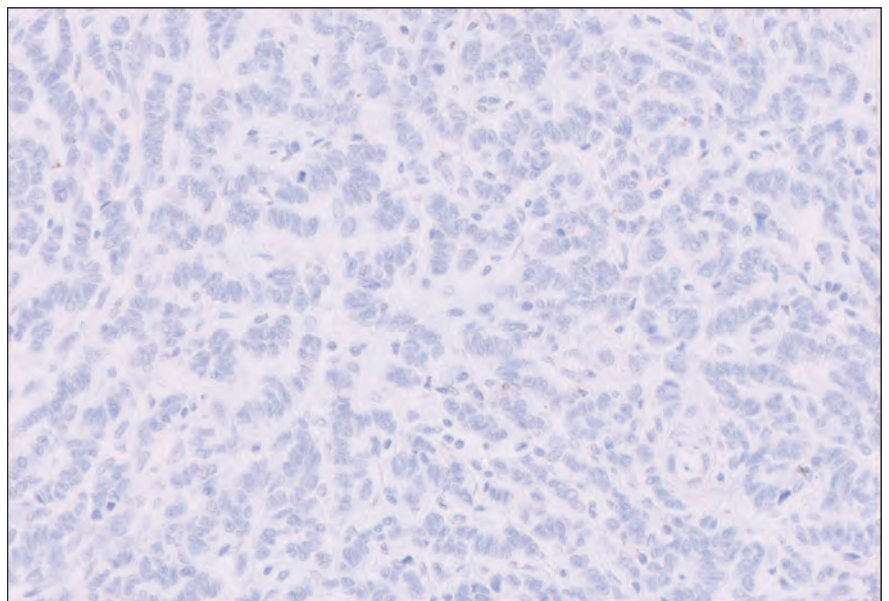


図 5: PD-L1 一次抗体で染色した理想的な施設内陰性コントロール組織（胃がん）。少数の染色免疫細胞以外は染色されていないことが示されています。（対物レンズ 20 倍）

オプションのコントロール組織

本品中のコントロールスライドおよび施設内コントロール組織に加えて、FFPE 扁桃組織もコントロール組織として使用することができます。PD-L1 一次抗体で染色した扁桃組織は、陰窩上皮で部分的に強い膜染色を示し、胚中心で濾胞性マクロファージに弱から中程度の膜染色を示します（図 6）。

内皮細胞、線維芽細胞、表層上皮には PD-L1 発現を認めません。

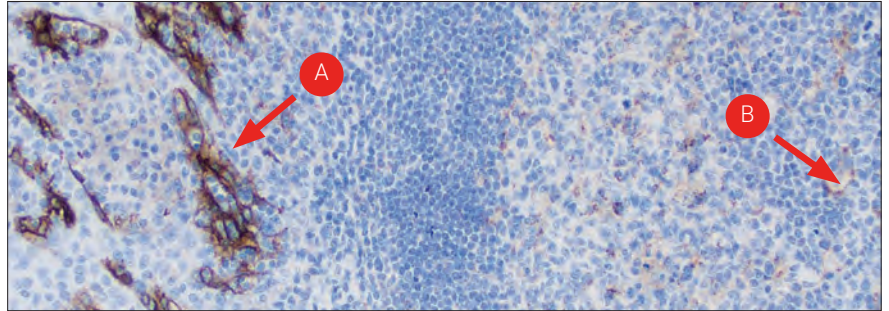


図 6: PD-L1 一次抗体で染色した扁桃組織は、陰窩上皮で部分的に強い膜染色を示し（A）、胚中心で濾胞性マクロファージに弱から中程度の膜染色を示します（B）（対物レンズ 10 倍）。

施設内コントロール組織を、結果解釈の補助として使用しないでください。

一次抗体陰性コントロール

一次抗体陰性コントロールで染色したスライドを観察し、一次抗体染色スライドの判定を妨げるような核染色を含む非特異的染色が存在するかどうかを確認します。良好な性能は特異的な染色がなく、スコアリング可能な腫瘍領域内での核染色を含む非特異染色が $\leq 1+$ であることにより示されます（図 7）。

一次抗体陰性コントロールで染色した患者検体スライドを観察し、一次抗体染色スライドの判定を妨げるような、核染色を含む非特異的染色が存在するかどうかを確認します。

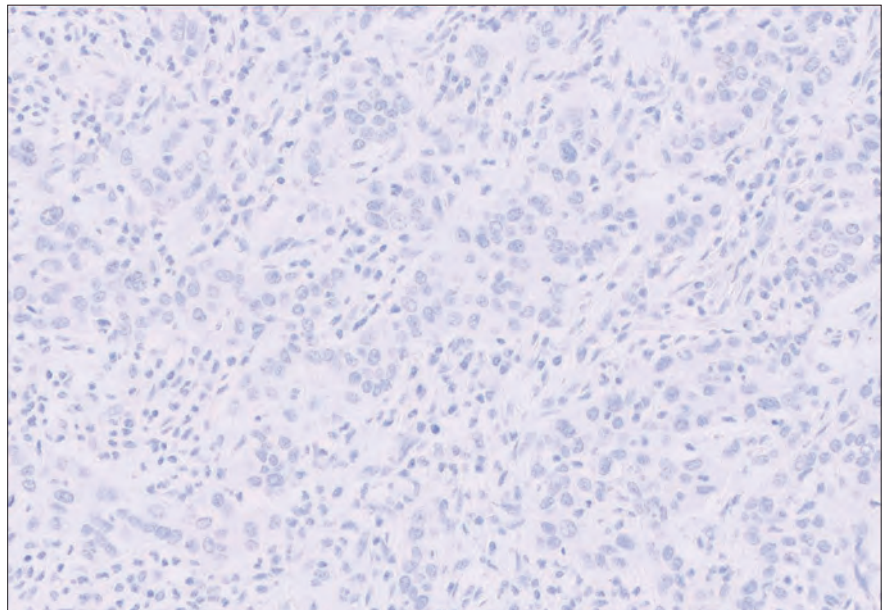


図 7: 一次抗体陰性コントロールで染色した胃癌組織検体（対物レンズ 20 倍）

一次抗体陰性コントロールで染色した検体と照らし合わせることで、一次抗体で染色した検体上の非特異的な染色を把握でき、より正確に判定することが可能です。

スライド評価フローチャート

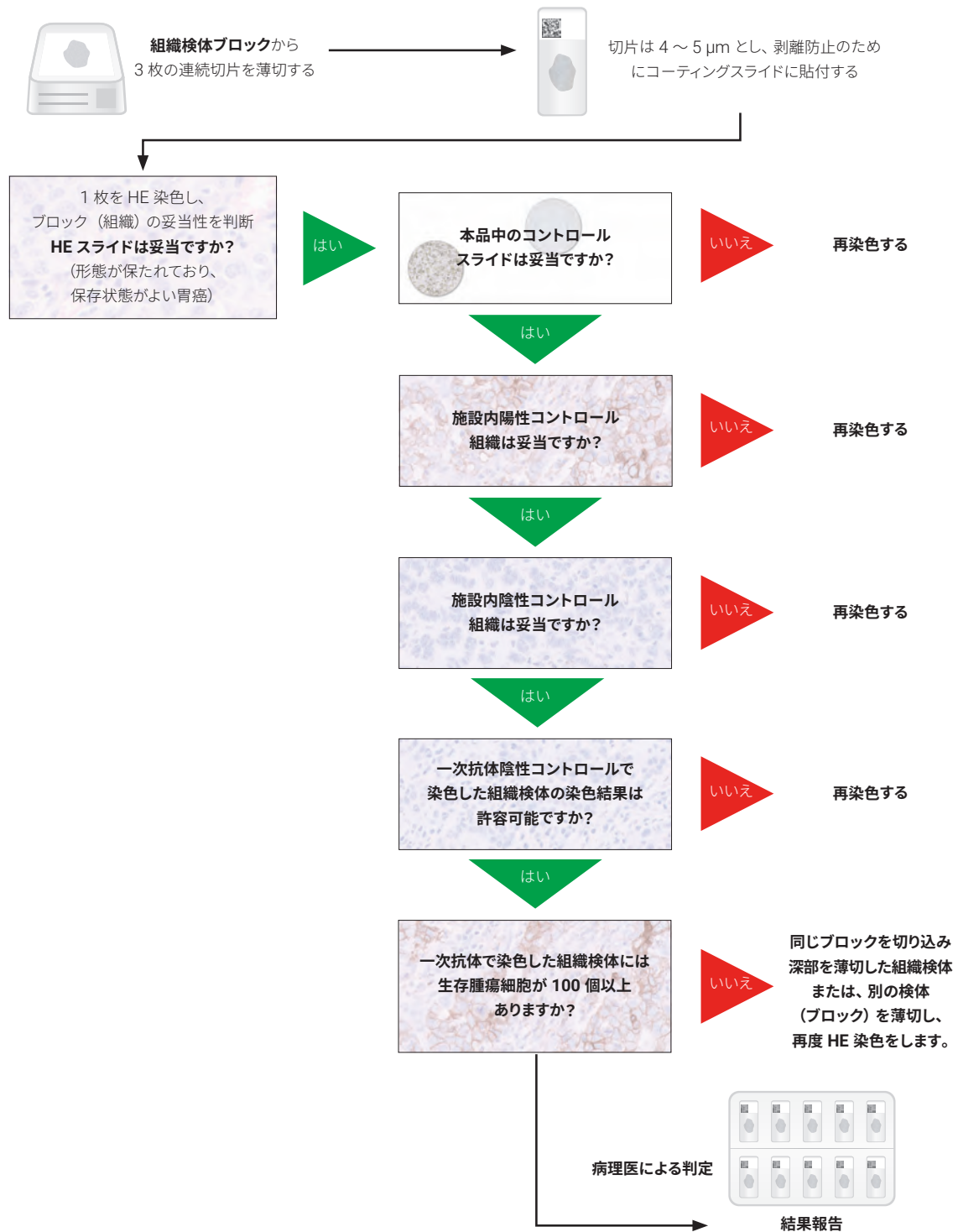


図 8: スライド評価の手順

Combined Positive Score (CPS)

Combined Positive Score (CPS) の定義

胃癌における PD-L1 発現率は、PD-L1 抗体で染色された PD-L1 陽性細胞（腫瘍細胞、リンパ球、マクロファージ*）の数を総生存腫瘍細胞数で割り、100 を掛けた Combined Positive Score (CPS) を用いて決定します。計算結果が 100 を超過することもあります、最高点を CPS 100 として定義します。

CPS は以下のとおり定義します。

$$\text{CPS} = \frac{\text{PD-L1 陽性細胞数 (腫瘍細胞、リンパ球、マクロファージ)}}{\text{生存腫瘍細胞の総数}} \times 100$$

* マクロファージと組織球は同じ細胞と判断します。

CPS の分子の組み入れ/除外基準

細胞質染色とは区別される明瞭な部分的または完全な細胞膜染色（強度 1+ 以上）を呈する腫瘍細胞を、PD-L1 発現陽性としてスコアリングに含めます。

腫瘍巣や隣接する間質内にあり、かつ細胞膜染色または細胞質染色（強度 1+ 以上）を呈するリンパ球およびマクロファージ（単核炎症細胞、MIC）は、PD-L1 発現陽性として CPS の分子に含めます。腫瘍に対する応答に直接関連する MIC のみをスコアリングします。

その他の CPS の組み入れ/除外基準については、20 ページの表 1 および 2 を参照してください。

Combined Positive Score (CPS) の決定

- 低倍率にて、良好に形態が保持されている全腫瘍細胞領域を観察します。PD-L1 陽陰性問わず腫瘍細胞の全領域を観察します。陽性と判断するためには、部分的または完全な細胞膜染色を呈している必要がありますが、低倍率での観察では膜染色の評価に注意を要することがある点に留意してください。組織検体上に 100 個以上の判定対象の腫瘍細胞が存在することを確認してください。
 - PD-L1 染色スライド（バイオプシーおよび切除検体）の腫瘍細胞が 100 個に満たない場合には、検体不適としてください。スライド 1 枚に複数の生検（3 ～ 5 個の内視鏡生検）を含む検体の場合、スライド上のすべての組織を評価し、1 つの CPS として計算する必要があります。各生検に対して、個別に結果報告をしてはいけません。
- 腫瘍細胞が 100 個に満たない場合には、ブロックを深く切り込むか、また、別のブロックを採用することで、十分数の細胞を得られる場合があります。
- 高倍率（20 倍）で PD-L1 発現率を評価して CPS を計算してください。
 - 腫瘍細胞の合計数（PD-L1 陽性および陰性）を決定します（CPS の分母）。
 - PD-L1 陽性細胞数（腫瘍細胞、リンパ球、マクロファージ）（CPS の分子。その他の CPS の組み入れ/除外基準については、20 ページの表 1 および 2 を参照）を決定します。
 - CPS を計算します。
- 細胞膜染色は 20 倍程度の対物レンズで評価します。スライドの評価者は、40 倍の対物レンズで CPS 計算を行わないでください。

表 1: 胃癌に対する CPS の分子の組み入れ/除外基準

組織成分	分子への組み入れ	分子からの除外
腫瘍細胞	胃癌の浸潤腫瘍細胞のはっきりとした部分的または完全な細胞膜染色（強度 1+ 以上）	<ul style="list-style-type: none"> 陰性腫瘍細胞 細胞質染色のみ呈する腫瘍細胞 腺腫、異形成、および上皮内癌
免疫細胞	腫瘍巣および隣接する間質内の単核炎症細胞（MIC）の細胞膜染色または細胞質 * 染色（強度 1+ 以上） [†] ： <ul style="list-style-type: none"> リンパ球（リンパ球集簇含む） マクロファージ[‡] 腫瘍に対する応答に直接関連する MIC のみがスコアリングされます。	<ul style="list-style-type: none"> 陰性 MIC 腺腫、異形成、および上皮内癌に関連する MIC 腫瘍関連でない潰瘍、慢性胃炎、および他のプロセスに関連する MIC（リンパ球集簇含む） 正常構造に関連する MIC 好中球、好酸球および形質細胞
その他の細胞	除外	<ul style="list-style-type: none"> 正常細胞（神経節細胞含む） 間質細胞（線維芽細胞含む） 壊死細胞または細胞片

* MIC では、細胞質に対する細胞核の比率が高いため、多くの場合、細胞膜染色と細胞質染色とは判別不能です。このため、MIC の細胞膜染色または細胞質染色は CPS の分子に含めます。

[†] 隣接する MIC は、腫瘍と同じ 20 倍視野内にあるものと定義されます。しかし、腫瘍に対する反応に直接関連しない MIC は除外されます。

[‡] マクロファージと組織球は同じ細胞と考えます。

表 2: 胃癌に対する CPS の分母の組み入れ/除外基準

組織成分	分母への組み入れ	分母からの除外
腫瘍細胞	全浸潤腫瘍細胞（PD-L1 陽性または陰性）	<ul style="list-style-type: none"> 非生存腫瘍細胞 腺腫、異形成、および上皮内癌
免疫細胞	除外	全免疫細胞
その他の細胞	除外	<ul style="list-style-type: none"> 正常細胞（神経節細胞含む） 間質細胞（線維芽細胞含む） 壊死細胞または細胞片

推奨方法

スコアリングは、経験のある病理医が実施してください。ここでは例として 2 つの評価方法を示します。様々な染色パターンにおいて、個々の Combined Positive Scores (CPS) を決定する際にご参考ください。

IHC スライド全体を評価して、どの方法を使用するかを決めてください。

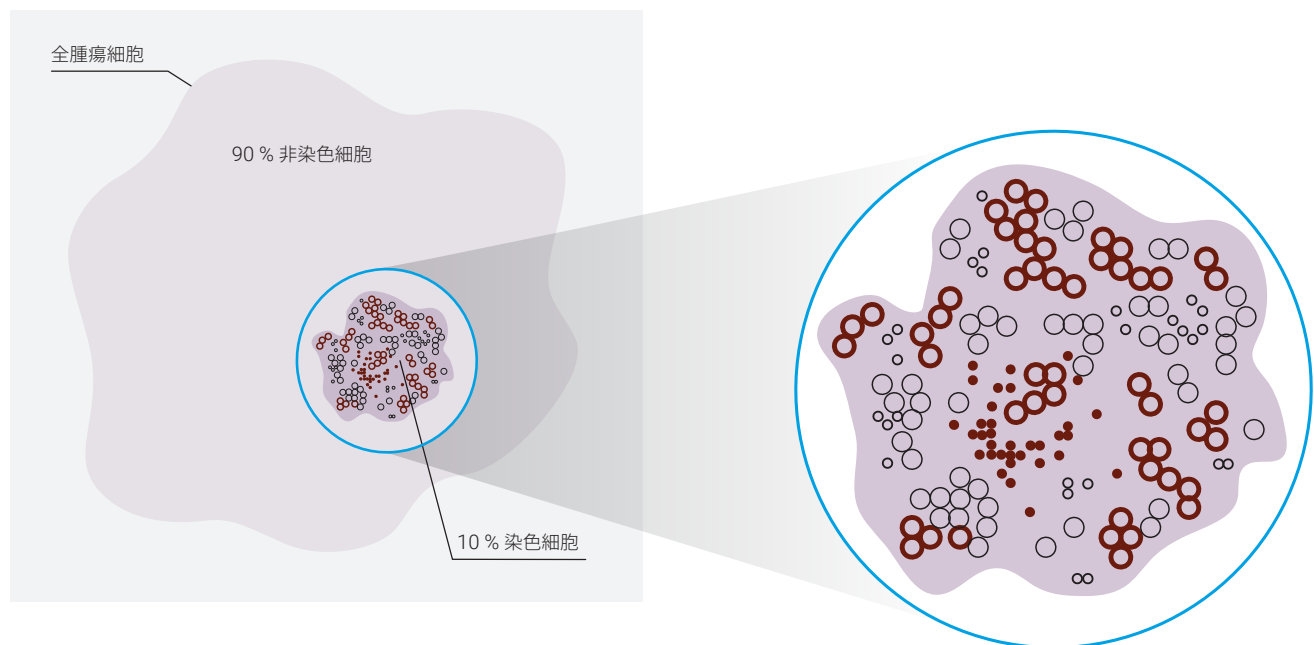
例 1: 狭い PD-L1 染色領域における Combined Positive Score (CPS) の計算

まず、19 ページの「Combined Positive Score (CPS) の決定」の記載に従って、腫瘍領域における染色箇所を評価していきます。

判定: 全腫瘍領域の 90 % は染色されておらず、染色領域は 10 %

次に、染色領域を評価し、PD-L1 陽性細胞数（腫瘍細胞、リンパ球、マクロファージ）を推定。

判定: 腫瘍細胞が約 100 個と PD-L1 陽性細胞が約 80 個（CPS の分子）存在。



腫瘍細胞領域全体の Combined Positive Score (CPS) を計算します。

判定:

染色領域の CPS

$$\text{CPS} = \frac{\text{PD-L1 陽性細胞数}^{\S}}{\text{生存腫瘍細胞の総数}} \times 100 = \frac{\text{PD-L1 陽性細胞数 約 80 個}}{\text{腫瘍細胞数 100 個}} \times 100 = 80$$

全腫瘍領域の CPS $10\% \times 80 \approx \text{CPS } 8$

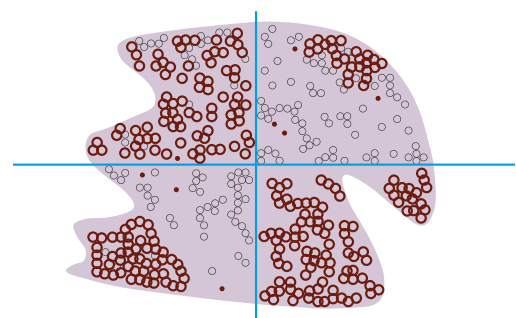
- PD-L1 陽性腫瘍細胞
- 陰性腫瘍細胞
- PD-L1 陽性単核炎症細胞
- 陰性単核炎症細胞

[§] 腫瘍細胞、リンパ球、マクロファージ含む

図 9: PD-L1 陽性領域が狭い腫瘍の例

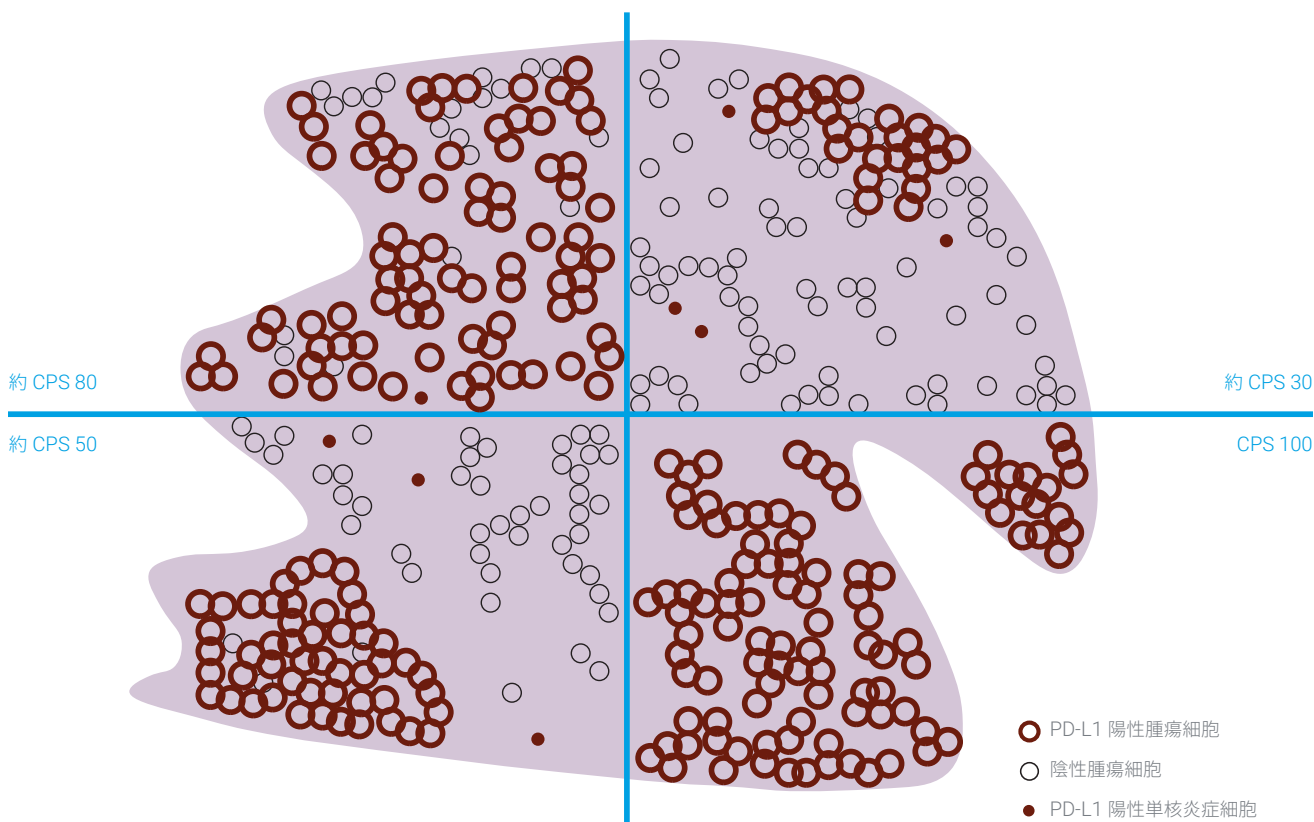
例 2: 不均一な PD-L1 染色領域における Combined Positive Score (CPS) の計算

まず、腫瘍細胞数が等しくなるように腫瘍領域を視覚的に分割。



次に、各領域を観察して、生存腫瘍細胞数および PD-L1 陽性細胞数（腫瘍細胞、リンパ球、マクロファージ）の総数を推定します。各領域の Combined Positive Score (CPS) を計算します。

判定: 4つの領域には PD-L1 陽性細胞（腫瘍細胞、リンパ球、マクロファージ）が約 80、30、50 および 100 個存在。各領域には腫瘍細胞（PD-L1 陽性細胞含む）が合計 100 個存在。各領域の CPS: 約 CPS 80、約 CPS 30、約 CPS 50、約 CPS 100



腫瘍細胞領域全体の Combined Positive Score (CPS) を計算します。

判定:

Combined Positive Score (CPS) :

$(80 + 30 + 50 + 100) / 4 \approx \text{CPS } 65$

図 10: PD-L1 陽性領域が不均一な腫瘍の例 :

$$\text{CPS} = \frac{\text{PD-L1 陽性細胞数 (腫瘍細胞、リンパ球、マクロファージ)}}{\text{生存腫瘍細胞の総数}} \times 100$$

CPS の判定

Combined Positive Score (CPS) を用いて PD-L1 発現率を判定します。

CPS に基づく検体の PD-L1 発現率のカテゴリ分類法の例は、以下の図 11 および 12 をご覧ください。この例では、カットオフ値として $CPS \geq 1$ が示されています。承認された適応症および PD-L1 発現率のカットオフ値については、PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」(型番: SK00621-5J) の各国の添付文書の記載を参照してください。

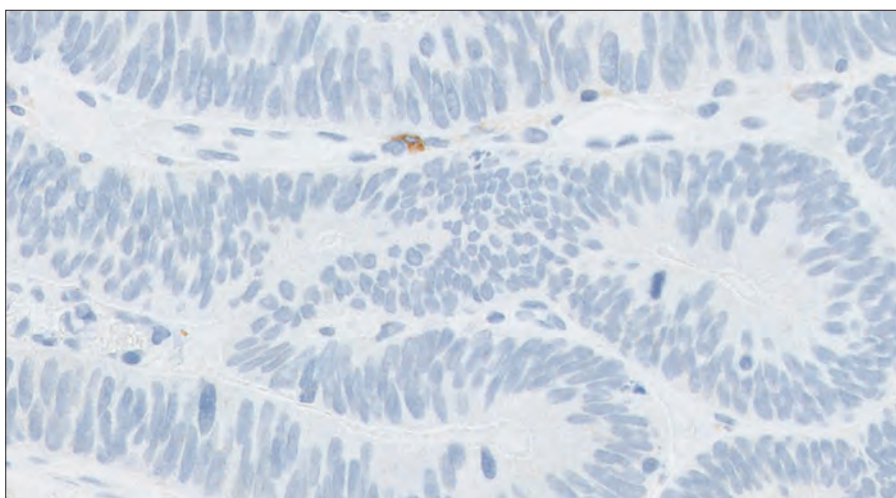


図 11: PD-L1 発現率が CPS 1 未満の胃癌検体の例 (対物レンズ 20 倍)

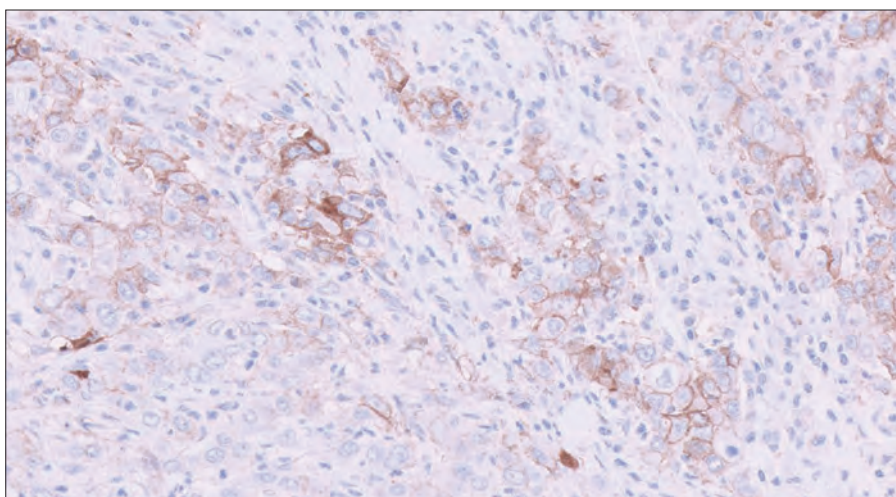


図 12: PD-L1 発現率が CPS 1 以上の胃癌検体の例 (対物レンズ 20 倍)

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」の臨床的バリデーションと臨床成績の詳細は、各国の添付文書を参照してください。

結果の報告

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」の結果報告の際には下記の内容を含めることが推奨されます。

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」の検査内容など：

検査日: _____

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」のロット番号: _____

染色ランログ ID: _____

検体 ID: _____

患者番号: _____

検査タイプ: IHC 染色 (マニュアル判定)

その他: _____

PD-L1 染色結果：

本品中のコントロールスライド染色結果: 合: ☐ 否: ☐

十分な腫瘍細胞数 (100 個以上): はい: ☐ いいえ: ☐

治療担当医師への結果報告

Combined Positive Score (CPS): _____

CPS < 1: ☐ $1 \leq \text{CPS} < 10$: ☐ $\text{CPS} \geq 10$: ☐

承認された胃癌の PD-L1 発現率のカットオフ値については、キイトルーダの添付文書等の記載を参照してください。

Combined Positive Score (CPS) の要約および症例

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx 「ダコ」での染色結果判定に おける注意事項

胃癌における PD-L1 陽性細胞の定義は以下のとおりです。

- － 細胞質染色とは区別される明瞭な部分的または完全な細胞膜染色（強度 1+ 以上）を呈する生存腫瘍細胞
- － 細胞膜染色または細胞質染色（強度 1+ 以上）を呈し腫瘍巣や隣接する間質内に存在するリンパ球およびマクロファージ（単核炎症細胞、MIC）。MIC は腫瘍に対する反応に直接関連していなければなりません。

胃癌における PD-L1 発現率は、PD-L1 抗体で染色した PD-L1 陽性細胞（腫瘍細胞、リンパ球、マクロファージ）の数を総生存腫瘍細胞数で割り、100 を掛けた Combined Positive Score (CPS) を用いて決定します。

$$\text{CPS} = \frac{\text{PD-L1 陽性細胞数 (腫瘍細胞、リンパ球、マクロファージ)}}{\text{生存腫瘍細胞の総数}} \times 100$$

この章では、Combined Positive Score (CPS) を正しく決定するために、スコアリングに含めるべきもの及び、除外すべきものについて説明します。図に別途説明のない限り、画像はすべて胃癌です。

胃癌症例のさまざまな染色像とその解釈

Combined Positive Score (CPS) に含める細胞

適切な PD-L1 発現を示す腫瘍細胞、リンパ球、およびマクロファージを、PD-L1 陽性細胞と定義します。PD-L1 陽性細胞はすべて CPS の分子に含めて Combined Positive Score (CPS) (その他の CPS 組み入れ/除外基準については、20 ページの表 1 および 2 を参照) を算出します。以下は、胃癌検体の CPS を正確に決定するのに役立つさまざまな染色像です。図に別途説明のない限り、画像はすべて胃癌です。

腫瘍細胞

腫瘍細胞のサイズ

胃癌には、さまざまな形態および腫瘍細胞のサイズが含まれ、CPS の分母となる総腫瘍細胞数が増減することで、Combined Positive Score (CPS) に影響を与えることがあります。高分化型腺癌では、比較的大きな腫瘍細胞が認められる場合があり、一般に 20 倍視野での細胞数は少ないですが、低分化型の類基底のパターンでは、比較的腫瘍細胞のサイズが小さく細胞質が少ないため、一般に 20 倍視野での腫瘍細胞数は多くなります。CPS の分母に含まれる腫瘍細胞数が多くなると、全体スコアを CPS 1 以上にあげるために必要な CPS の分子の PD-L1 陽性腫瘍細胞、リンパ球、およびマクロファージの数が増えます。ガイドラインとして、直径 20 μm の腫瘍細胞が 20 倍の視野全体に広がっていると考えた場合、その視野中の腫瘍細胞数は 2500 個程度と考えられます。

小さな腫瘍細胞

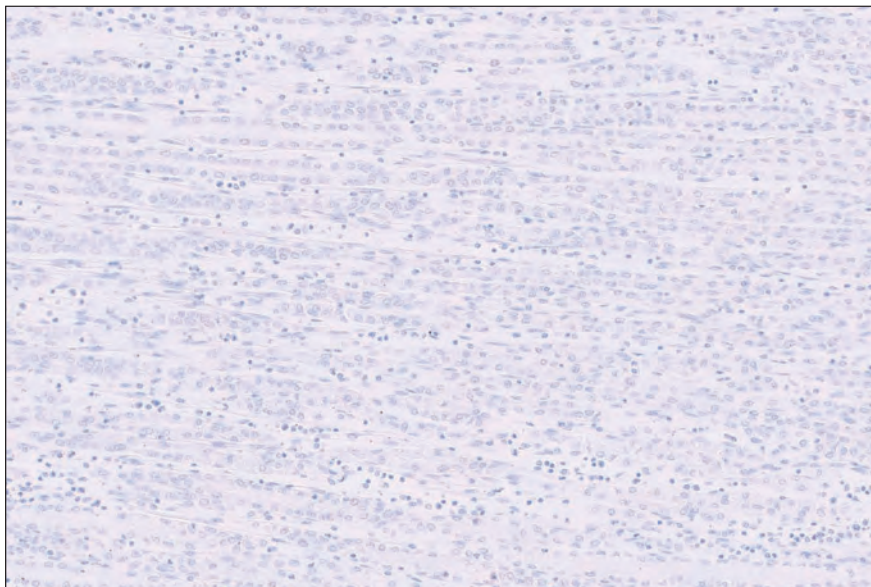


図 13a: 小さな腫瘍細胞を含む胃癌検体 (対物レンズ 20 倍)

中等度サイズの腫瘍細胞

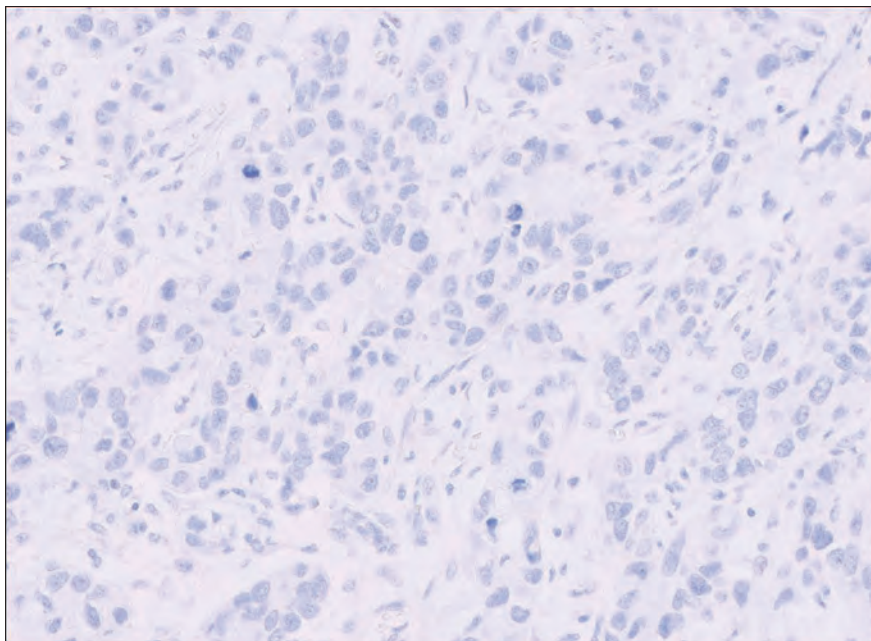


図 13b: 中等度の腫瘍細胞を含む胃癌検体（対物レンズ 20 倍）

大きな腫瘍細胞

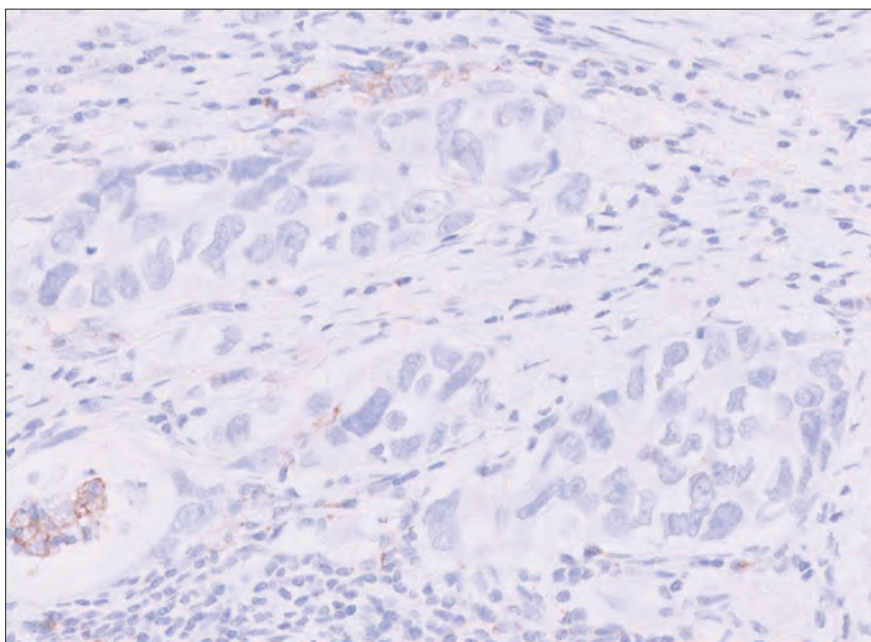


図 13c: 大きな腫瘍細胞を含む胃癌検体（対物レンズ 20 倍）

重要なポイント

腫瘍細胞のサイズによって、CPS の分母中の総腫瘍細胞数が増加または減少し、CPS に影響が生じます。

判別困難な腫瘍細胞および免疫細胞

腫瘍細胞および免疫細胞について、PD-L1 抗体で染色したスライドで観察する際、腫瘍のサイズが小さい場合や染色の特徴から、判別が困難な場合があります。細胞の種類を判別する際には、対応する HE 染色標本を観察することが推奨されます。HE 染色標本を確認することは、CPS の分母を判定する際にきわめて重要です。

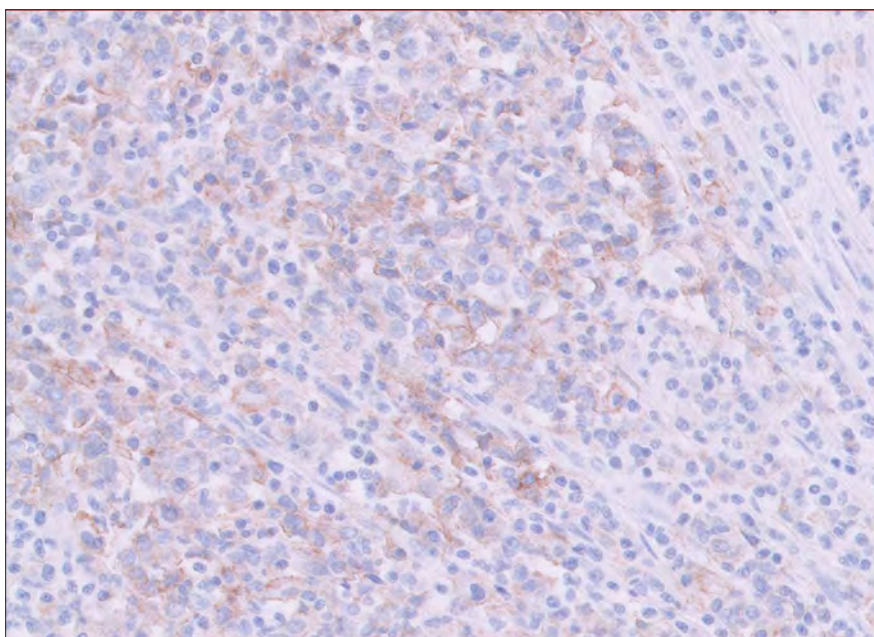
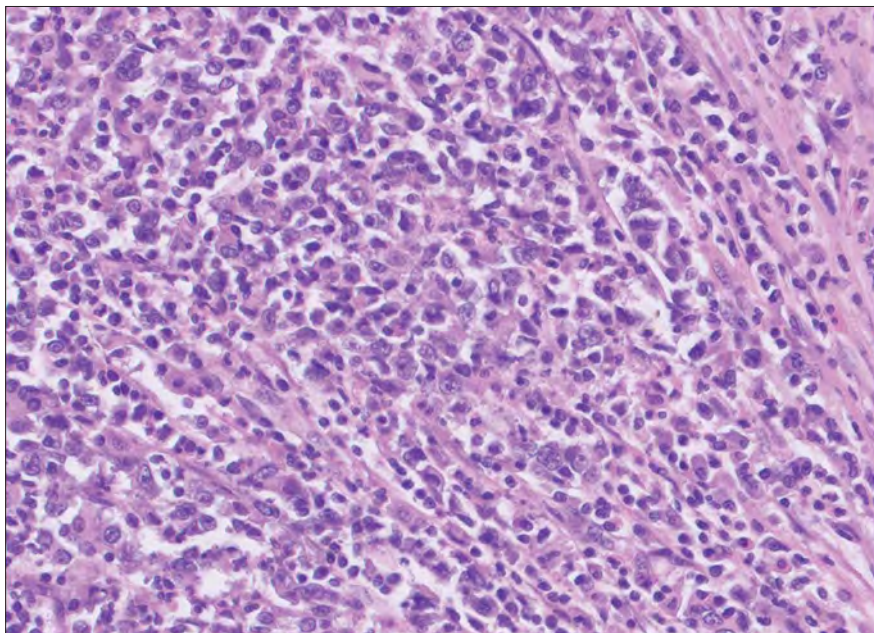


図 14: 判別困難な腫瘍細胞と免疫細胞が混在した領域を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。HE 染色（上）および対応する PD-L1 染色（下）。

重要なポイント

免疫細胞と腫瘍細胞との判別が難しい場合には、HE 染色標本にて確認してください。

細胞膜染色

明瞭な部分的または完全な滑らかな膜染色や顆粒状の細胞膜染色を示す腫瘍細胞は、PD-L1 陽性細胞と考えます。真の細胞膜染色は染色強度を問わず存在し、対物レンズ 20 倍までで十分認識できればなりません。

明らかな細胞膜染色を示す腫瘍細胞には多くの場合不均一で、種々の染色強度を伴います。

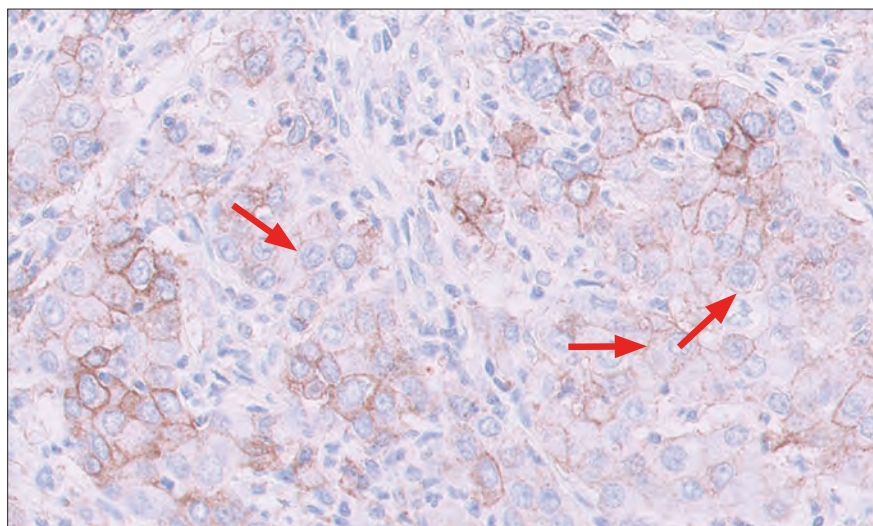


図 15a: PD-L1 一次抗体で染色した胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。強度 1+ の細胞膜染色を呈する腫瘍細胞が認められます（矢印）。

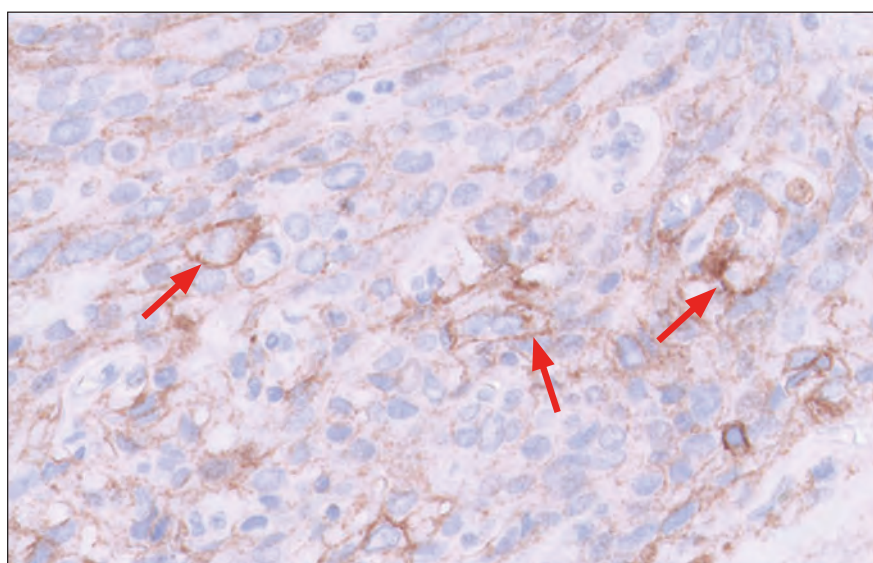


図 15b: PD-L1 一次抗体で染色した胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。強度 2+ の細胞膜染色を呈する腫瘍細胞が認められます（矢印）。

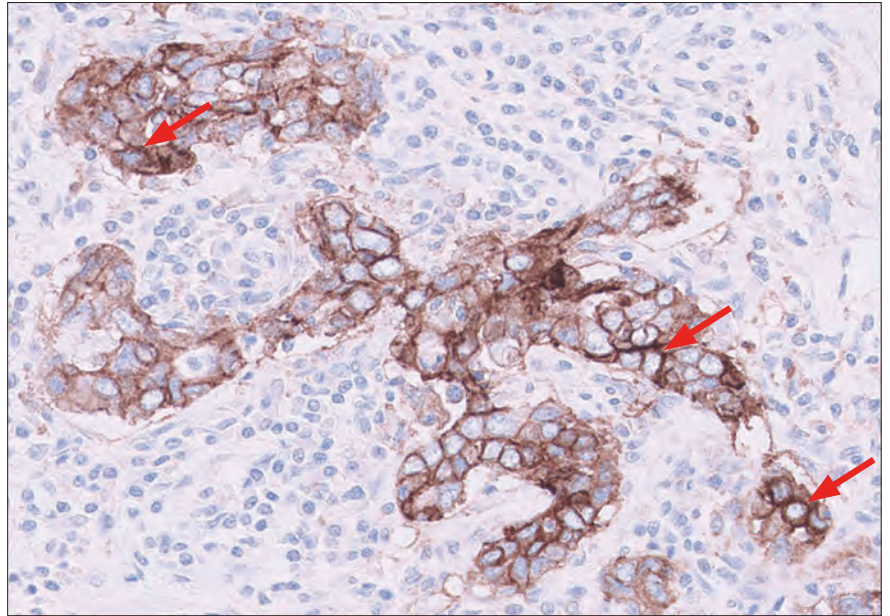


図 15c: PD-L1 一次抗体で染色した胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。強度 3+ の細胞膜染色を呈する腫瘍細胞が認められます（矢印）。

重要なポイント

強度 1+ 以上の明らかな細胞膜染色を呈する腫瘍細胞はスコアリングに含めます。

部分的または完全な細胞膜染色

腫瘍細胞は部分的または完全な細胞膜染色を示す場合があります。対物レンズ 20 倍で、明瞭な部分的または完全な細胞膜染色（強度 1+ 以上）を示す腫瘍細胞は CPS の分子に含めます。

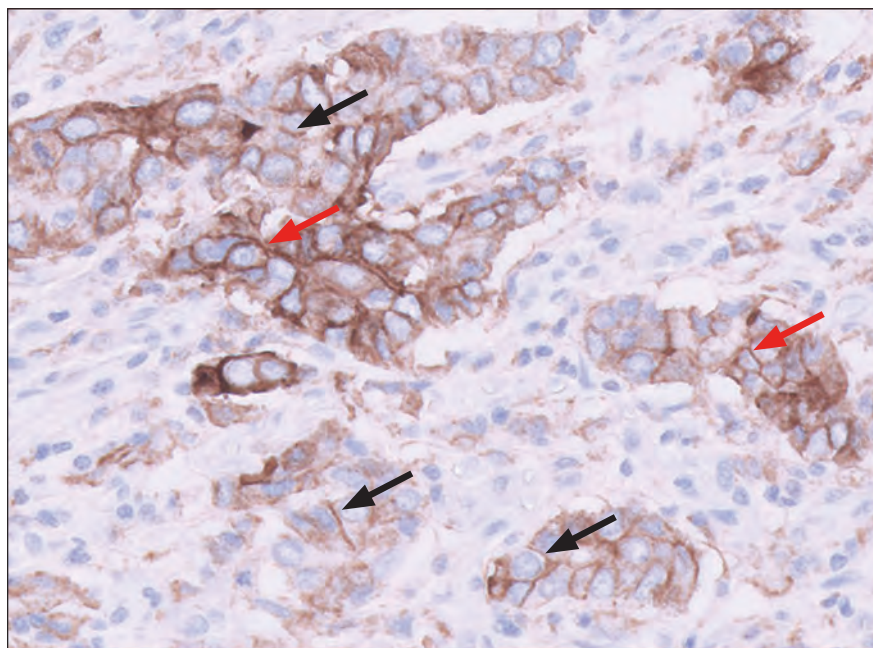


図 16: PD-L1 一次抗体で染色した胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。部分的（黒矢印）または完全な（赤矢印）細胞膜染色を呈する腫瘍細胞が認められます。

重要なポイント

明らかに部分的または完全な細胞膜染色を呈する腫瘍細胞はスコアリングに含めます。

細胞膜染色および細胞質染色

対物レンズ 20 倍で、明らかな細胞膜染色（強度 1+ 以上）および細胞質染色の両方を示す腫瘍細胞は CPS の分子に含めます。細胞質染色のみを示す腫瘍細胞は CPS の分子から除外します。細胞質染色とはっきりと区別できる細胞膜染色を呈する場合は（細胞膜染色を肯定できる場合）、CPS の分子に含めます。

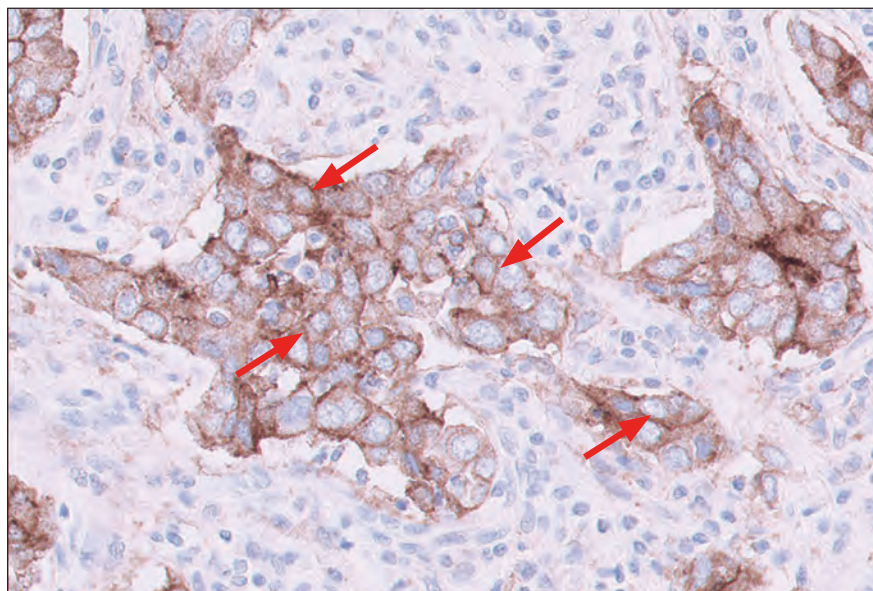


図 17: PD-L1 一次抗体で染色した胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。腫瘍細胞に細胞質染色とは区別される、顆粒状であるが確かな細胞膜染色が認められます（矢印）。

重要なポイント

細胞質染色とは異なる明らかな細胞膜染色を示す腫瘍細胞はスコアリングに含めます。

顆粒状の染色

腫瘍細胞は、顆粒状の細胞膜染色を呈することがあります。腫瘍細胞は、細胞膜染色と細胞質染色を判別することが難しい顆粒状の細胞膜染色パターンを示す場合があります。対物レンズ 20 倍以下で明らかに細胞膜染色と判定できる腫瘍細胞（強度 1+ 以上）のみを CPS の分子に含めます。

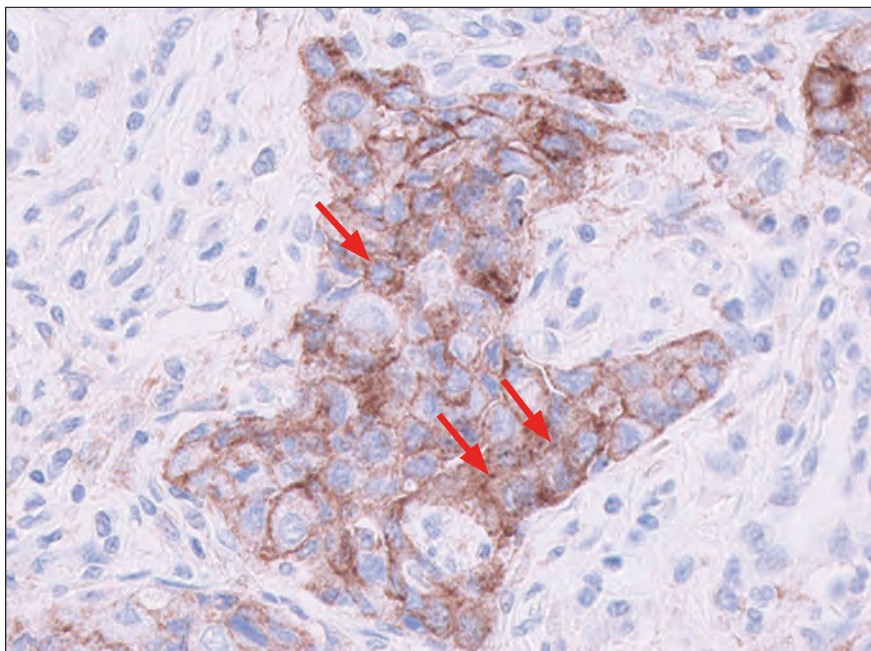


図 18: PD-L1 一次抗体で染色した胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。腫瘍細胞に顆粒状の細胞膜染色が認められます（矢印）。

重要なポイント

顆粒状の染色を呈する腫瘍細胞は、明らかに細胞膜と判定できる細胞のみを CPS の分子に含めます。

多核腫瘍細胞

胃癌の一部の腫瘍細胞は多核性がありますが、多核腫瘍細胞は 1 細胞として数えます。CPS の分子と分母への組み入れには同じ規則を適用します。すなわち、生存腫瘍細胞はすべて CPS の分母に組み入れ、部分的または完全な細胞膜染色を示す腫瘍細胞はすべて CPS の分子に組み入れます。

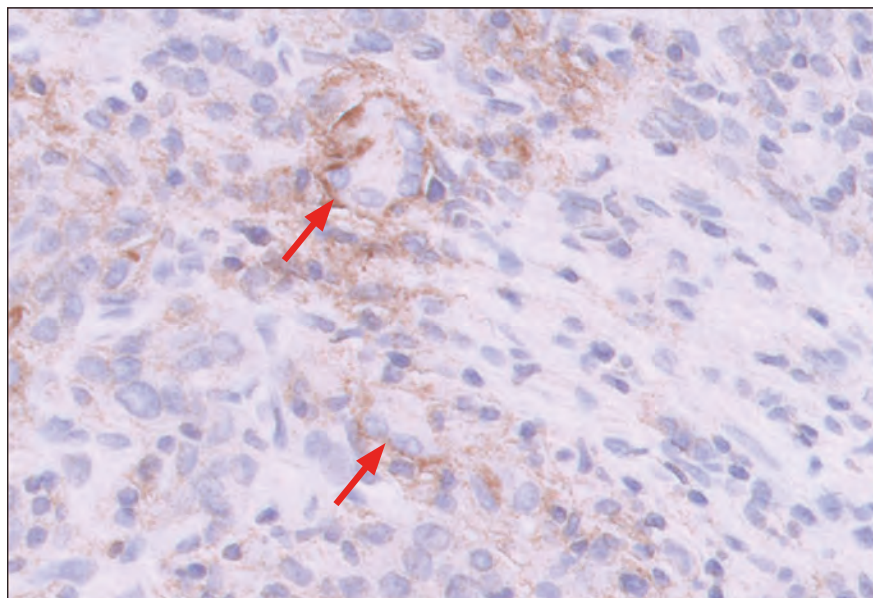


図 19: PD-L1 一次抗体で染色した胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。多核腫瘍細胞の染色が認められます（矢印）。

重要なポイント

多核腫瘍細胞は胃癌に見られ、単核腫瘍細胞と同じ組み入れ/除外基準を適用します。

血管内腫瘍細胞

生存血管内腫瘍細胞は CPS の分母に含め、明らかな細胞膜染色を呈する場合は、CPS の分子に含める。

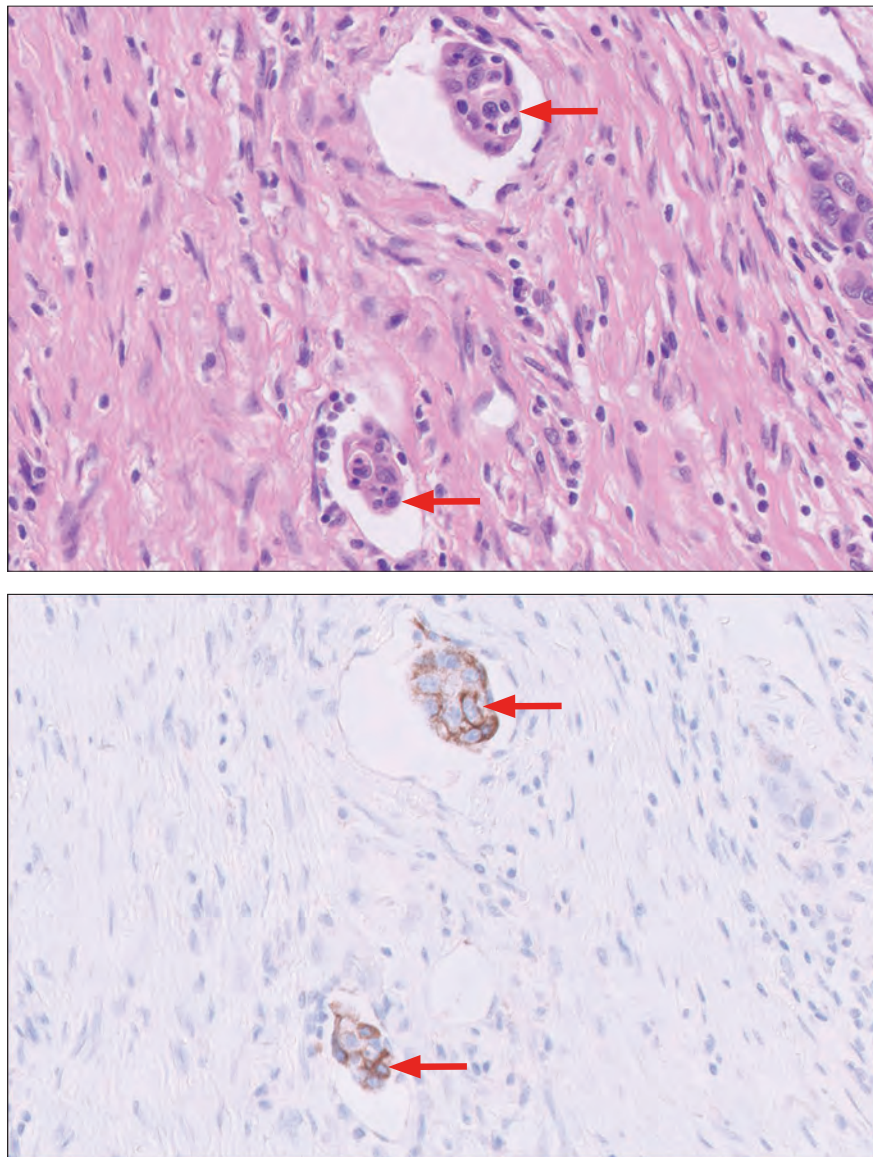


図 20: 血管内腫瘍細胞（矢印）は、CPS の分子と分母に含めます。HE 染色（上）および対応する PD-L1 染色（下）（対物レンズ 20 倍）。

免疫細胞

腫瘍関連単核炎症細胞（MIC）

対物レンズ 20 倍（強度 1+ 以上）で細胞膜染色または細胞質染色を示す、腫瘍関連リンパ球およびマクロファージ（単核炎症細胞、MIC）は、PD-L1 陽性細胞と考えられるため CPS の分子に含めます。腫瘍関連 MIC は腫瘍巣や隣接する間質内に存在し、腫瘍に対する反応に直接関連があります。

腫瘍関連リンパ球およびマクロファージ（細胞膜または細胞質）の染色は、多くの場合不均一で染色強度はさまざまです。

注意事項: PD-L1 発現リンパ球は、細胞質に対する核の比率が高いために細胞膜染色と細胞質染色が区別できないことが多くあります。PD-L1 発現マクロファージでは多くの場合、明確な細胞膜染色と低度の細胞質染色が認められます。PD-L1 陽性の腫瘍関連 MIC はすべて、CPS の分子に含めます。

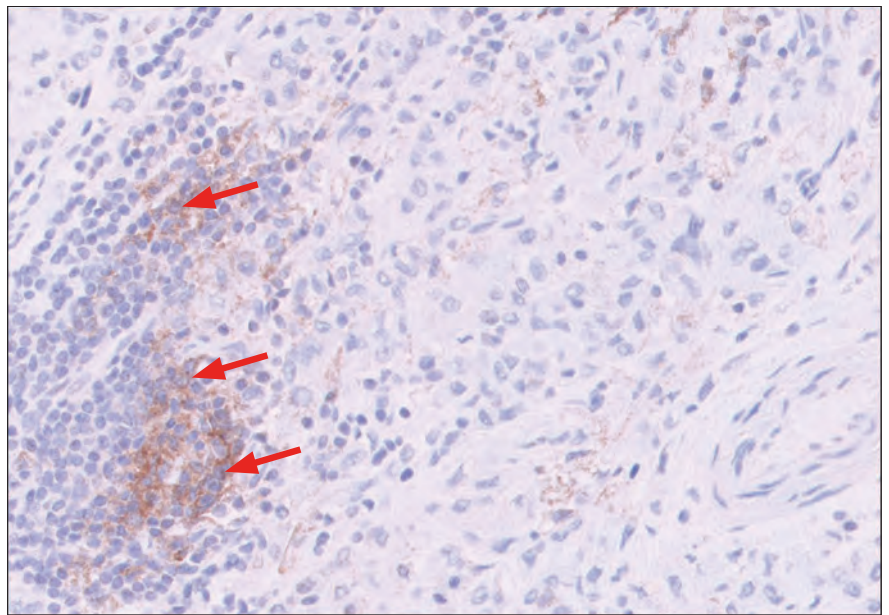


図 21a: PD-L1 一次抗体で染色した胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。腫瘍関連リンパ球の染色が認められます（矢印）。

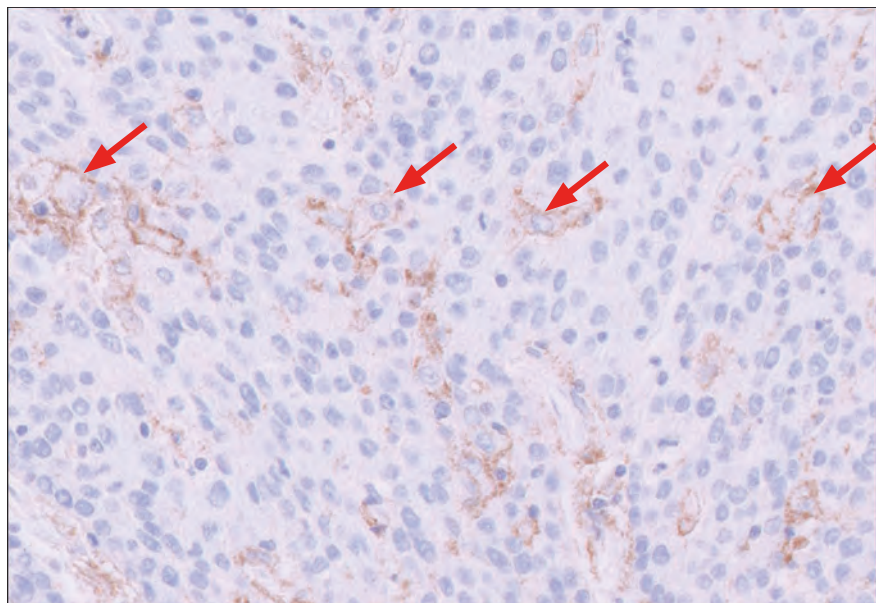


図 21b: PD-L1 一次抗体で染色した胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。腫瘍内に腫瘍関連マクロファージの染色が認められます（矢印）。

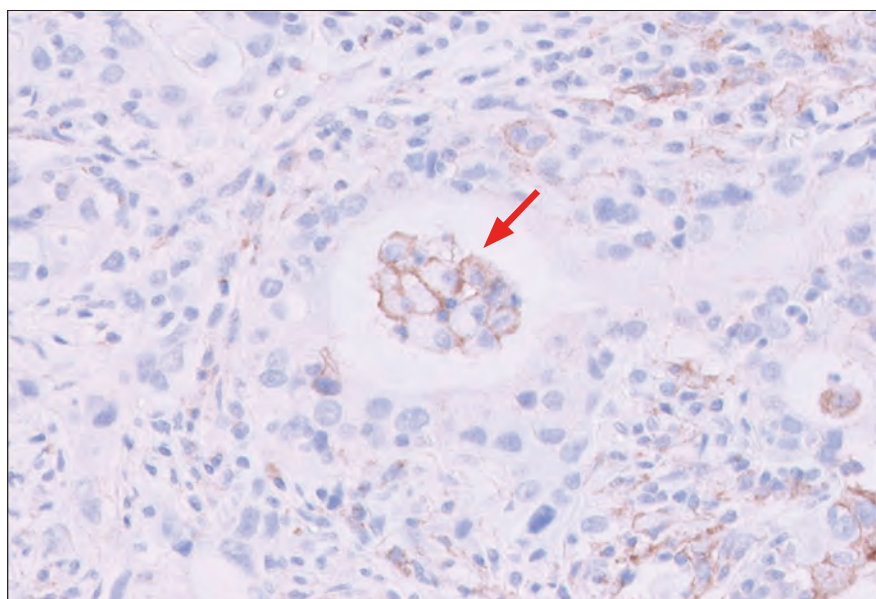


図 21c: PD-L1 一次抗体で染色した胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。CPS の分子に含める腫瘍内の管腔内マクロファージの PD-L1 染色が認められます（矢印）。

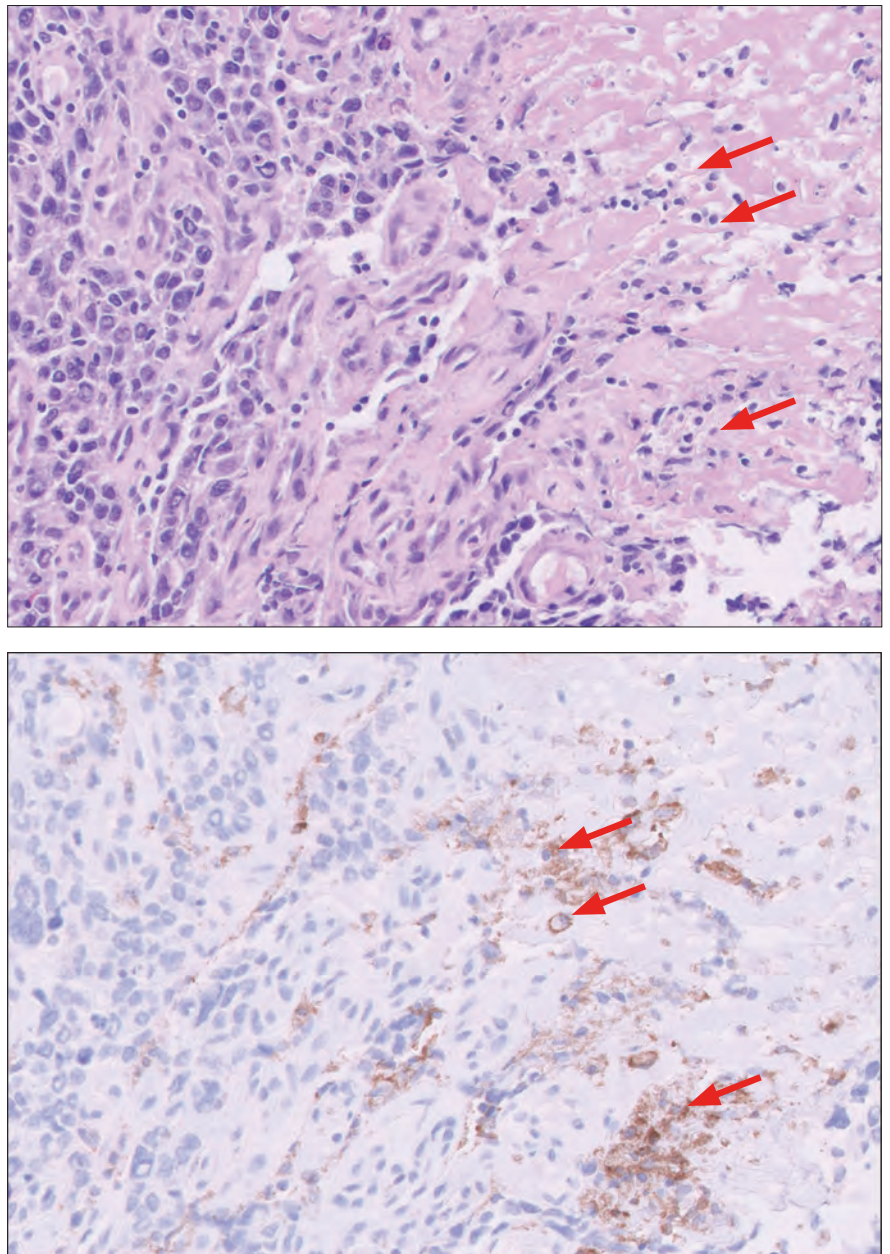


図 21d: CPS の分子に含める壊死組織内の生存腫瘍細胞に隣接する腫瘍関連単核炎症細胞 (MIC) の染色を示す (矢印) 胃癌検体 (対物レンズ 20 倍)。HE 染色 (上) および対応する PD-L1 染色 (下)。

多核巨細胞

胃癌では多核巨細胞が見られるため、こうした細胞に PD-L1 染色が見られる場合、多核巨細胞は 1 細胞として数えて CPS の分子に含めます。

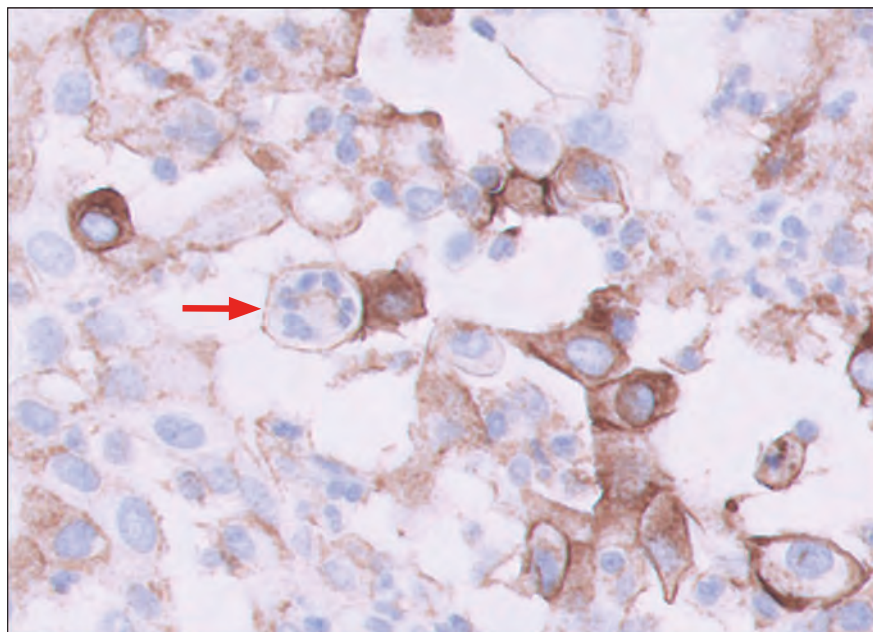


図 22: PD-L1 一次抗体で染色した胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。腫瘍関連多核巨細胞の染色が認められます（矢印）。

重要なポイント

細胞膜染色または細胞質染色を示す腫瘍関連リンパ球およびマクロファージは CPS の分子に含めます。

免疫細胞の組み入れ/除外: 20 倍ルール

PD-L1 発現単核炎症細胞 (MIC) を CPS の分子に含めるには、腫瘍に対する反応に直接関連していなければなりません。MIC が対物レンズ 20 倍視野内の腫瘍巣や隣接した支持間接細胞内にある場合には、腫瘍に関連すると考えられます。MIC の腫瘍関連性の判別が困難な場合、推奨するガイドラインを以下に示します。

スライドを移動して、小さな腫瘍巣が 20 倍視野のほぼ中心にくるように、または大きな腫瘍の塊が 20 倍視野の約半分を占めるようにします。この視野内にある MIC はスコアリングに含めます。この視野外の MIC は、近隣の腫瘍を取り囲んでいない限り、スコアリングから除外します。CPS の分子に含める PD-L1 陽性 MIC の判定例については、図 23a ~ 23c を参照してください。

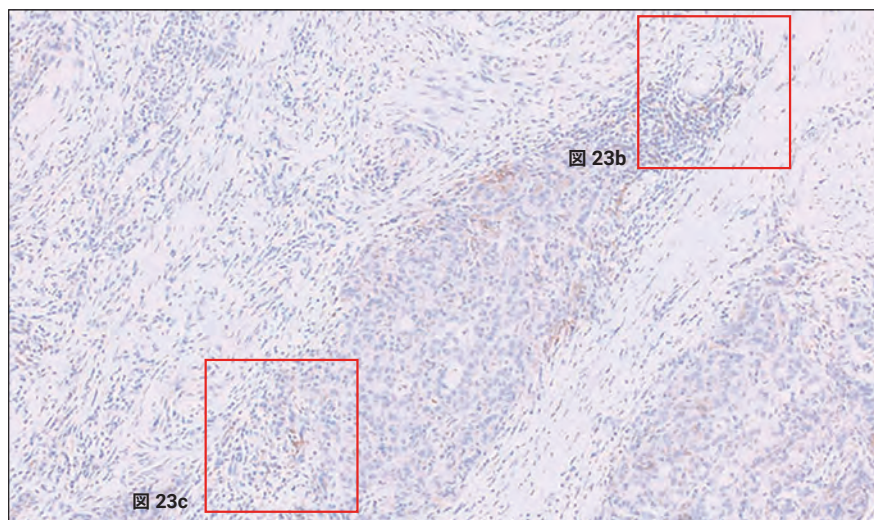


図 23a: 5 倍の対物レンズでは、PD-L1 染色を示す MIC の 2 領域が目視可能です。上記の手順に従って、各視野を 20 倍に拡大して、CPS の分子に含める PD-L1 陽性 MIC を決定します (対物レンズ 5 倍)。

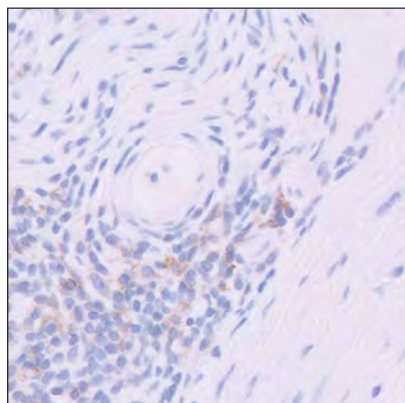


図 23b: この PD-L1 陽性 MIC を含む 20 倍視野には腫瘍細胞がないため、これらの MIC はいずれも CPS の分子には含めません (対物レンズ 20 倍)。

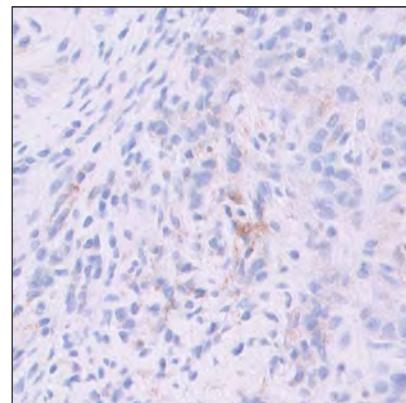


図 23c: 腫瘍を 20 倍視野の約半分を占めるように配置したときに同一視野に収まる PD-L1 陽性 MIC は、腫瘍に直接関連する MIC と捉え CPS の分子に含めます (対物レンズ 20 倍)。

CPS から除外される細胞

PD-L1 細胞膜染色を示す腫瘍細胞および PD-L1 細胞膜染色または細胞質染色を示す腫瘍関連 MIC のみを CPS の分子に含めます。PD-L1 発現を示すものの、CPS 計算（CPS の分子または分母）からは除外される他の細胞を以下のページに示します。

注意事項: 本マニュアルには、すべての除外例を掲載していませんが、最も多く認められる除外因子を以下に示します。全除外基準については、20 ページの表 1 および 2 を参照してください。

細胞質染色のみの腫瘍細胞

細胞質染色のみを示す腫瘍細胞は CPS の分子から除外します。ただし、CPS の分母には含めます。

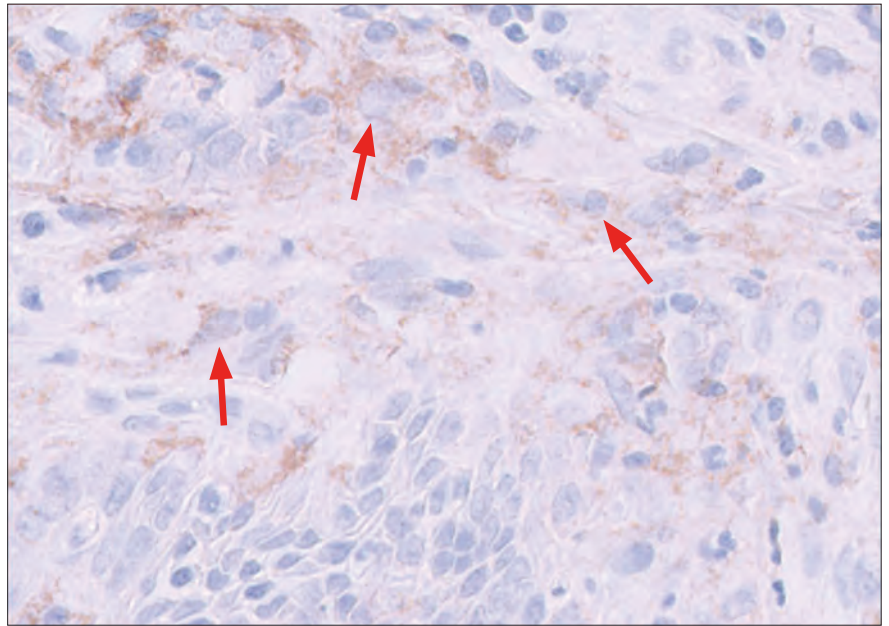


図 24: PD-L1 一次抗体で染色した胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。腫瘍細胞の細胞質染色のみが認められます（矢印）。

重要なポイント

細胞質染色のみを示す腫瘍細胞は CPS の分子に含めません。

軽度異形成

軽度異形成（矢印）は CPS の計算から除外します。HE 染色（上）および対応する PD-L1 染色（下）（対物レンズ 20 倍）。

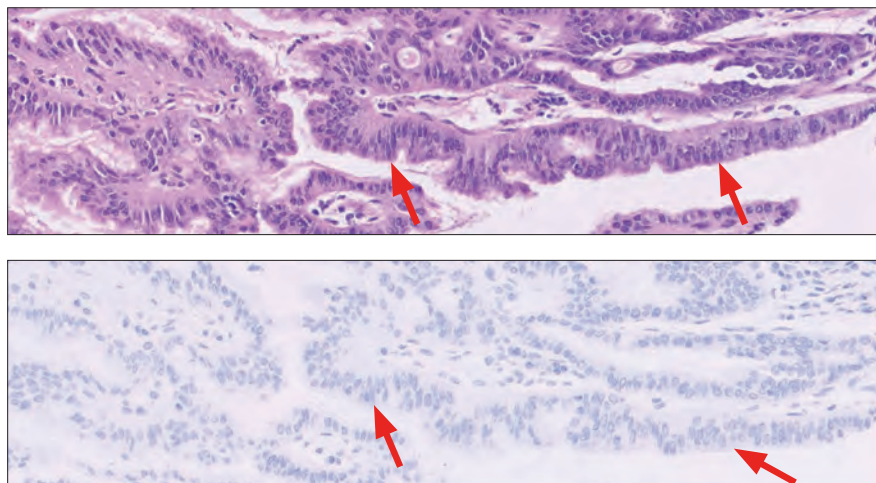


図 25: 軽度異形成（矢印）は CPS の計算から除外します。HE 染色（上）および対応する PD-L1 染色（下）（対物レンズ 20 倍）。

高度異形成（上皮内癌（CIS））

高度異形成は、PD-L1発現の有無にかかわらず除外します。また、高度異形成関連 PD-L1 陽性 MIC もCPS の計算から除外します。

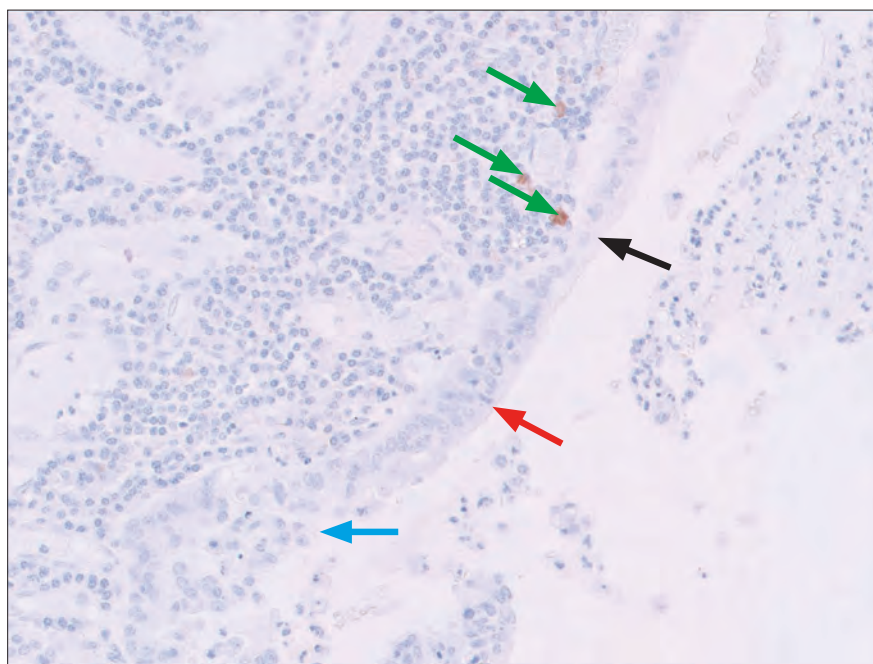
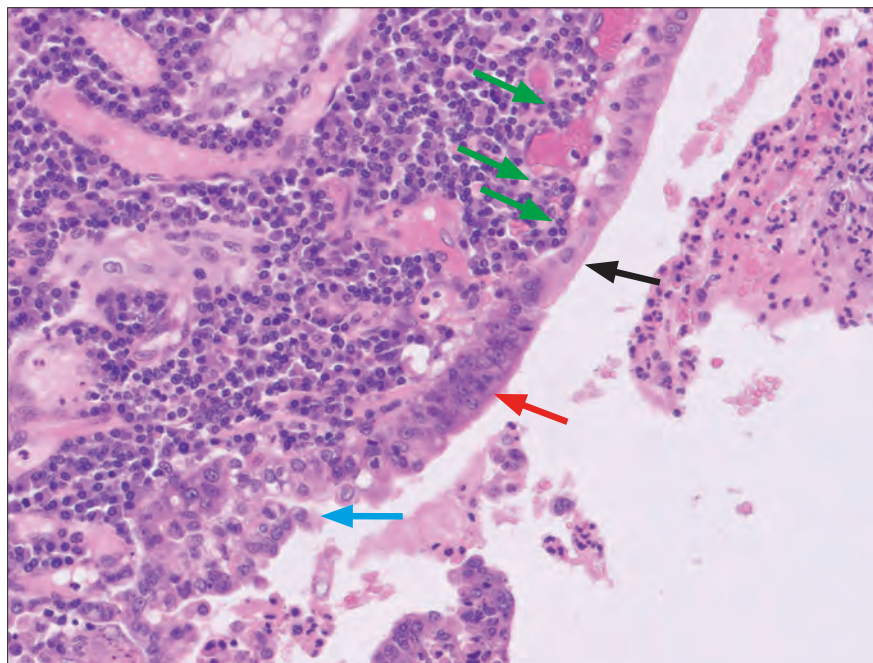


図 26a: 良性上皮（黒矢印）、高度異形成/CIS（赤矢印）、および良性病態関連 PD-L1 陽性 MIC（緑矢印）は CPS の計算から除外します。浸潤性腺癌（青矢印）は CPS の計算に含めます。HE 染色（上）および対応する PD-L1 染色（下）（対物レンズ 20 倍）。

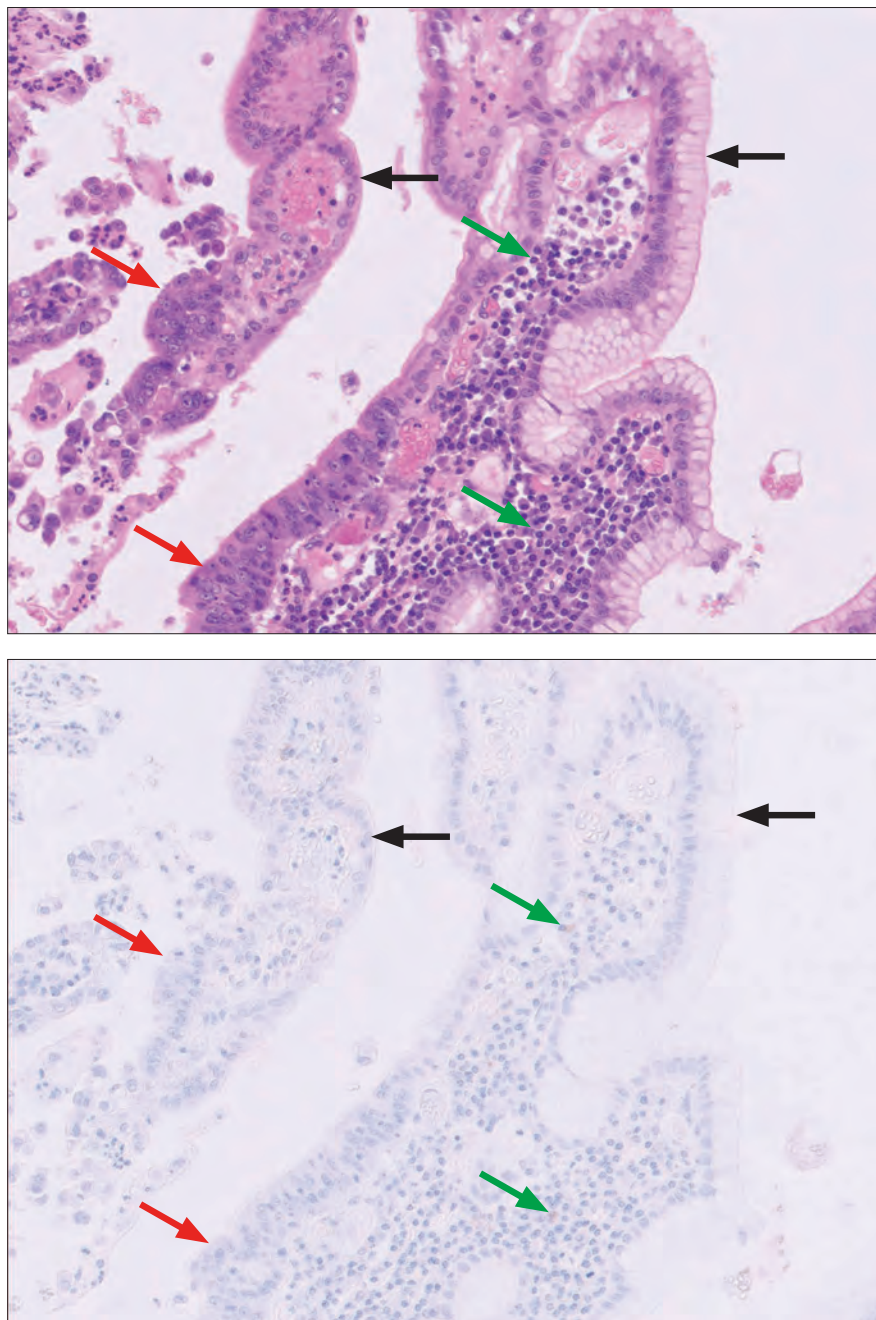


図 26b: 良性上皮 (黒矢印)、良性上皮関連 PD-L1 陽性 MIC (緑矢印)、高度異形成/CIS (赤矢印) は CPS の計算から除外します。HE 染色 (上) および対応する PD-L1 染色 (下) (対物レンズ 20 倍)。

重要なポイント

胃の軽度異形成および高度異形成/上皮内癌 (CIS) は PD-L1 発現を示すことがありますが、スコアリングからは除外します。

CPS から除外すべきその他の免疫細胞

さまざまな種類の免疫細胞が PD-L1 陽性を示す可能性があります。CPS 計算に含めるのは腫瘍関連リンパ球およびマクロファージのみです。免疫細胞の組み入れ/除外の 20 倍ルールに関しては、40 ページを参照してください。好中球、好酸球、および形質細胞は CPS の計算から除外します。

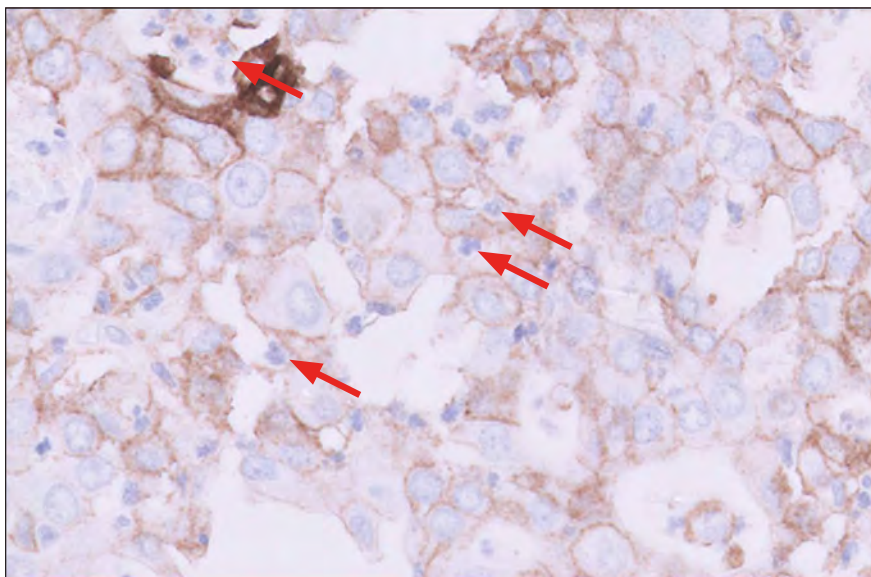


図 27a: PD-L1 一次抗体で染色した胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。好中球の染色が認められます（矢印）。

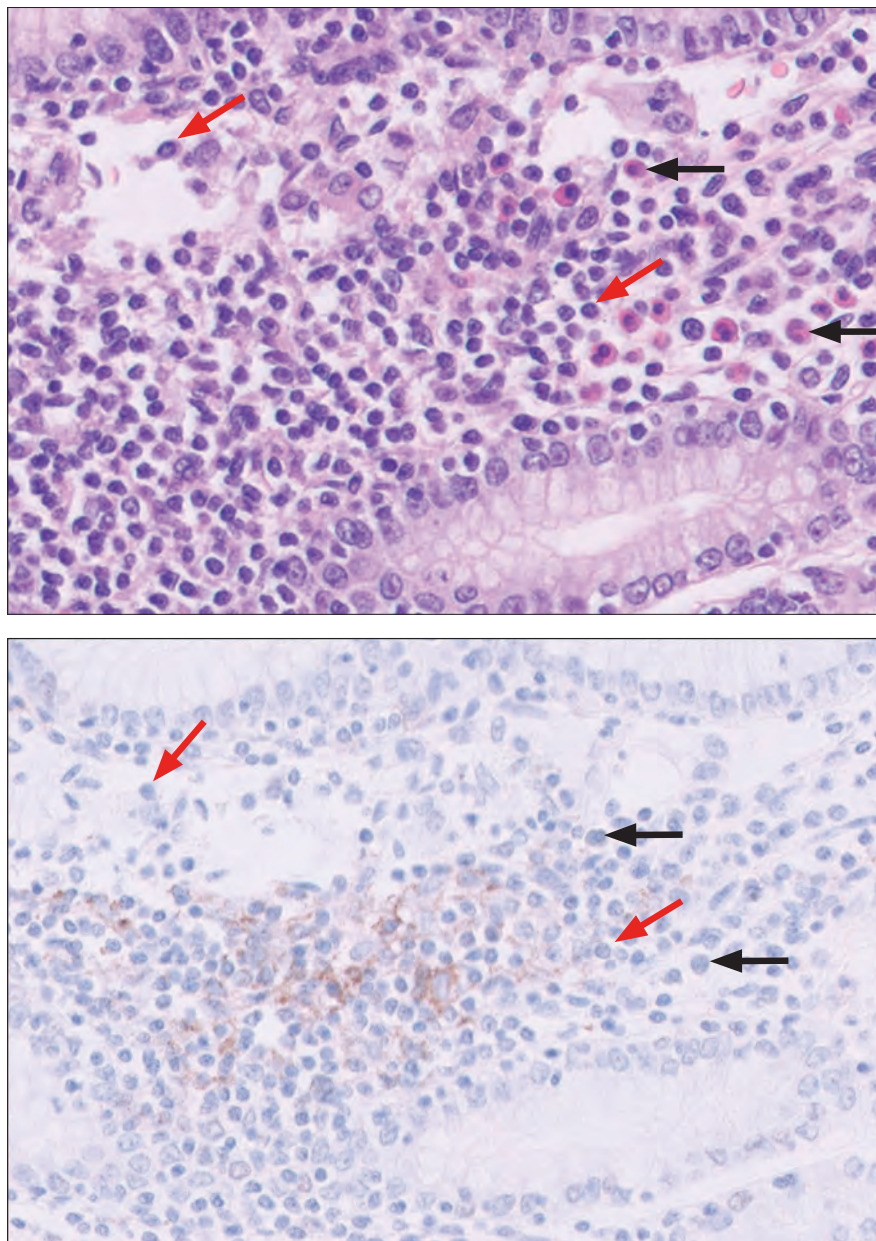


図 27b: 形質細胞（赤矢印）と好酸球（黒矢印）を含む部位がある胃癌検体。これらの細胞は CPS の計算から除外します。HE 染色（上）および対応する PD-L1 染色（下）（対物レンズ 20 倍）。

重要なポイント

好中球、好酸球、および形質細胞はスコアリングから除外します。

良性細胞に関連する MIC

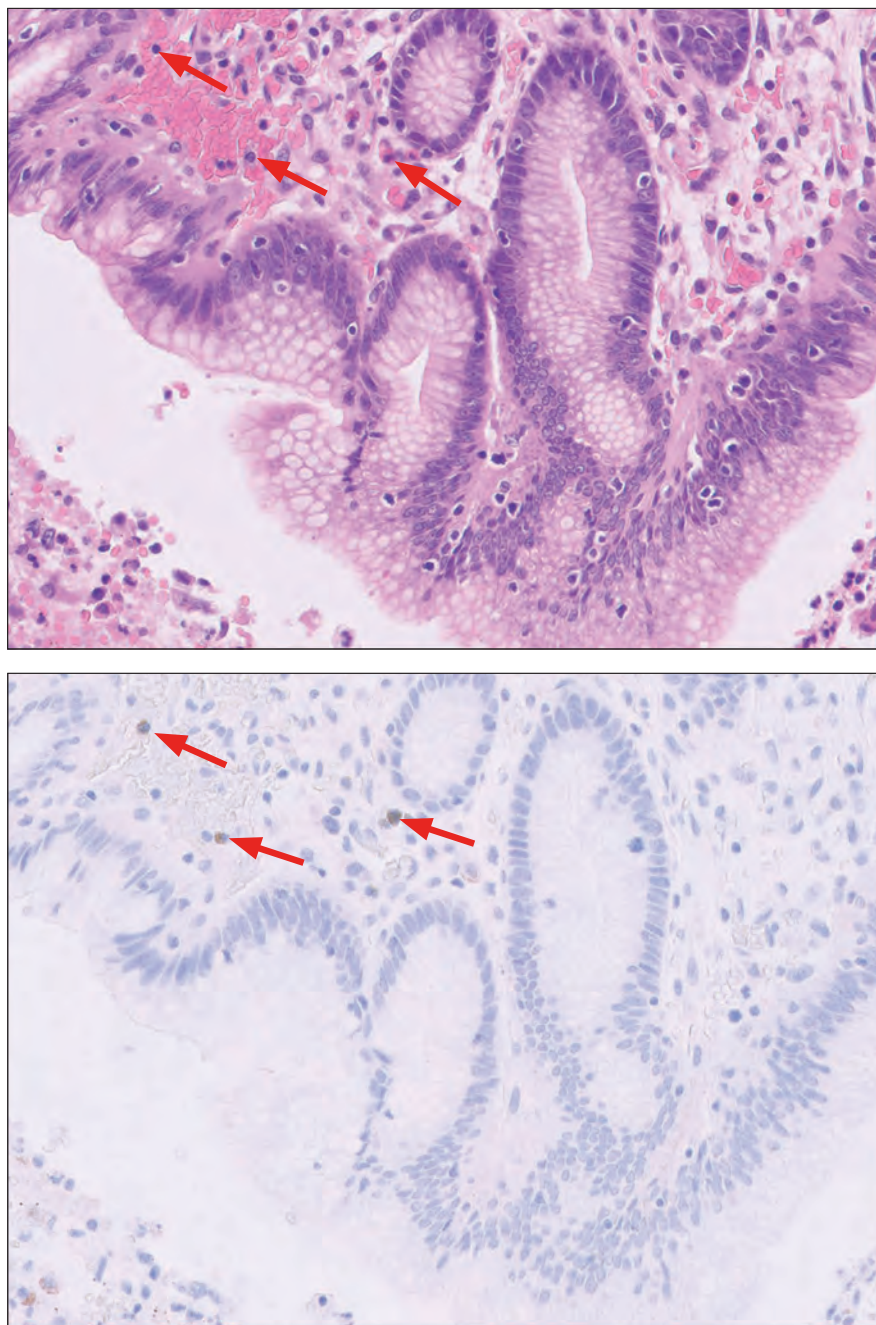


図 28a: 良性上皮に関連する免疫細胞の染色を示す (矢印) 胃癌検体。これらの細胞はスコアリングから除外します。HE 染色 (上) および対応する PD-L1 染色 (下) (対物レンズ 20 倍)。

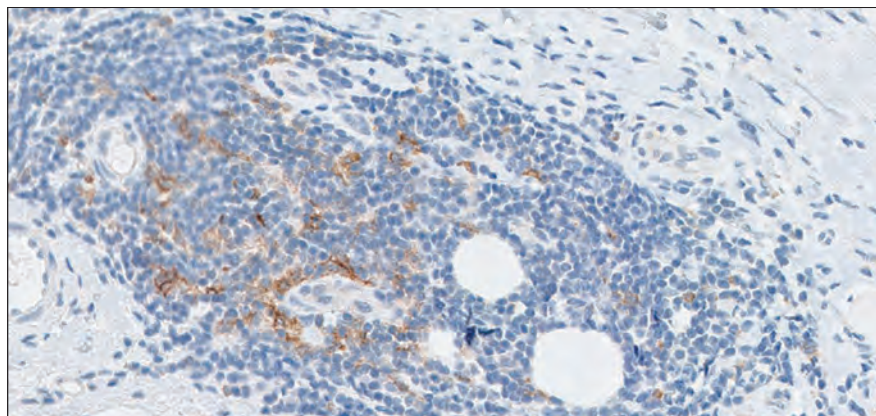


図 28b: 腫瘍に対する応答に関連しないリンパ球集簇内の PD-L1 陽性 MIC (対物レンズ 10 倍)。

重要なポイント

良性細胞およびそれに関連する免疫細胞の両者に PD-L1 発現を認めることがありますが、いずれもスコアリングから除外します。

CPS から除外されるその他の細胞

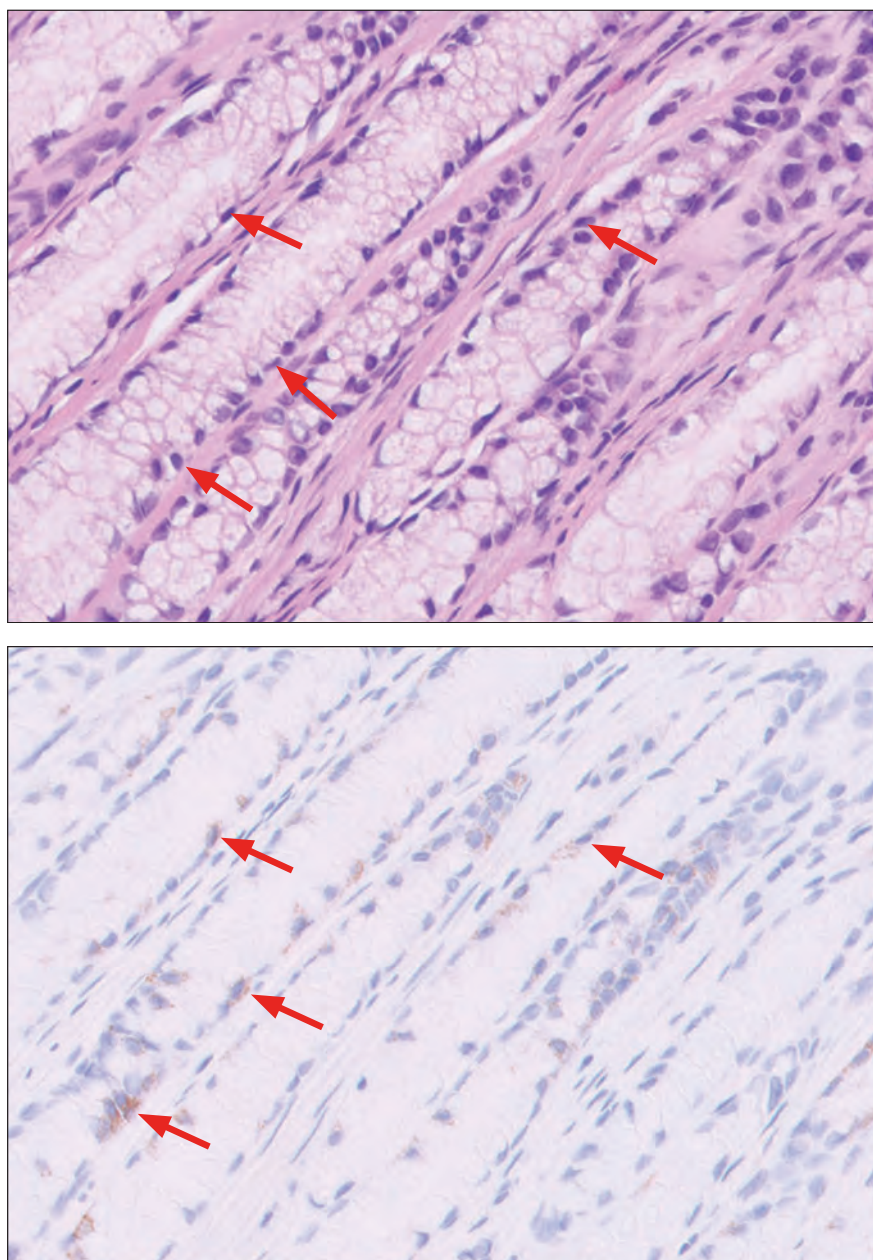


図 29a: 良性腺の染色を示す (矢印) 胃癌検体。HE 染色 (上) および対応する PD-L1 染色 (下) (対物レンズ 20 倍)。

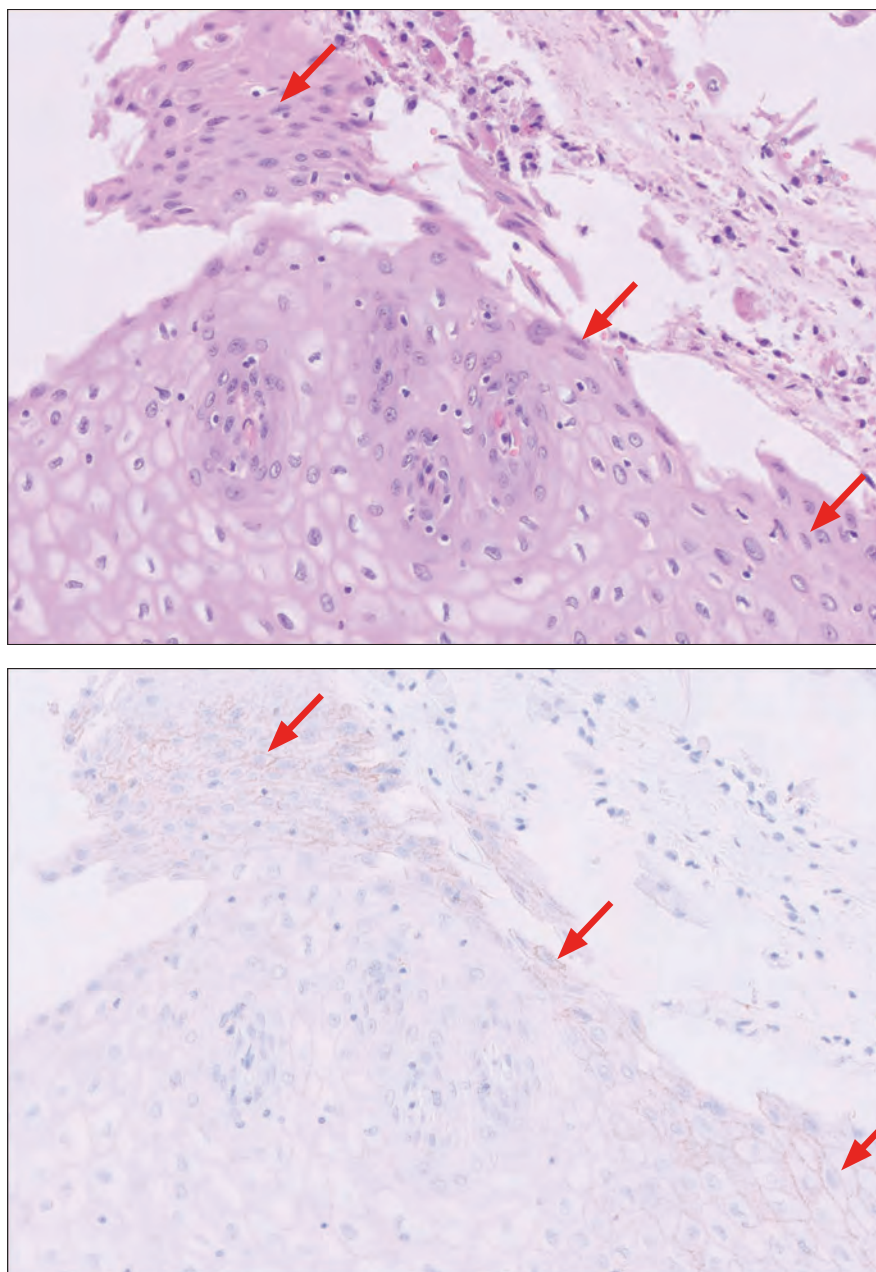


図 29b: 良性表層上皮の染色を示す (矢印) 胃癌検体。HE 染色 (上) および対応する PD-L1 染色 (下) (対物レンズ 20 倍)。

間質細胞

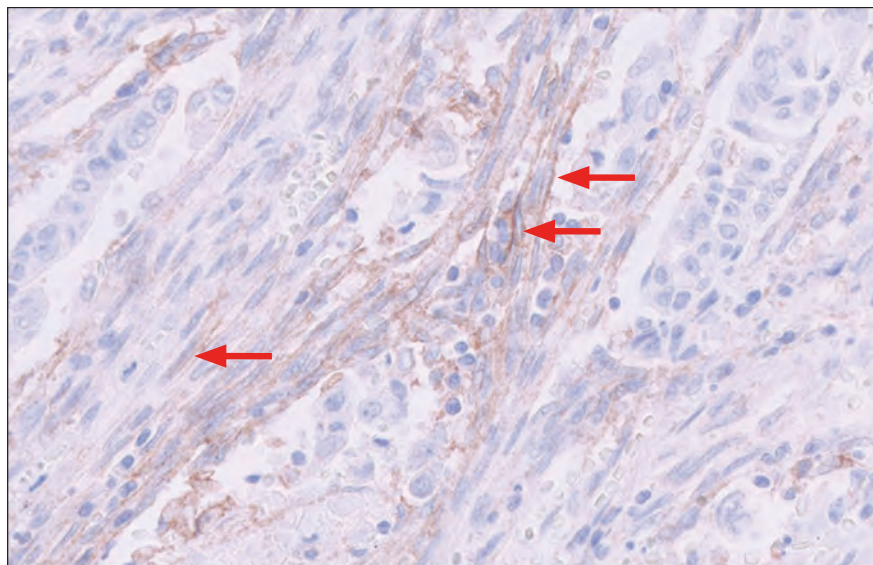


図 30: PD-L1 一次抗体で染色した胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。線維芽細胞を含む間質細胞が染色されています（矢印）。

重要なポイント

PD-L1 陽性の間質細胞はスコアリングから除外します。

アーチファクト

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」により染色した検体において認められる可能性があるアーチファクトを以降のページに示します。

スコアリング不可能な 特異的染色

スコアリング不可能な特異的染色は、CPS でスコアリングする場合には含まれない、細胞表面または細胞内コンパートメントにおいて発生する抗 PD-L1 抗体/PD-L1 抗原相互作用による色素原関連染色として定義されます。PD-L1 スライドに認められ、一次抗体陰性コントロールスライドには認められないため、特異的な染色です。ただし、CPS アルゴリズムに含まれていない細胞表面（間質細胞、末梢神経、形質細胞など）または細胞内コンパートメント（腫瘍細胞の細胞質または核など）に認められるため、スコアリングできません。この Specific Nonscorable staining（スコアリング不可能な特異的染色像）が、本来の CPS スコアに干渉していないか、最善の臨床判断を検討するための結果として相応しいかという観点から、ご判断頂くことを推奨します。スコアリング不可能な特異的染色により、本来のスコアリングが干渉され、結果の信頼性が懸念される場合には、その PD-L1 スライドを判定不可とします。たとえ、スコアリング不可能な組織成分の特異的染色性が高い（強度 1+ 超）場合であっても、病理医が自信をもってその組織の CPS スコアを出せる際には、評価可能と判断します。

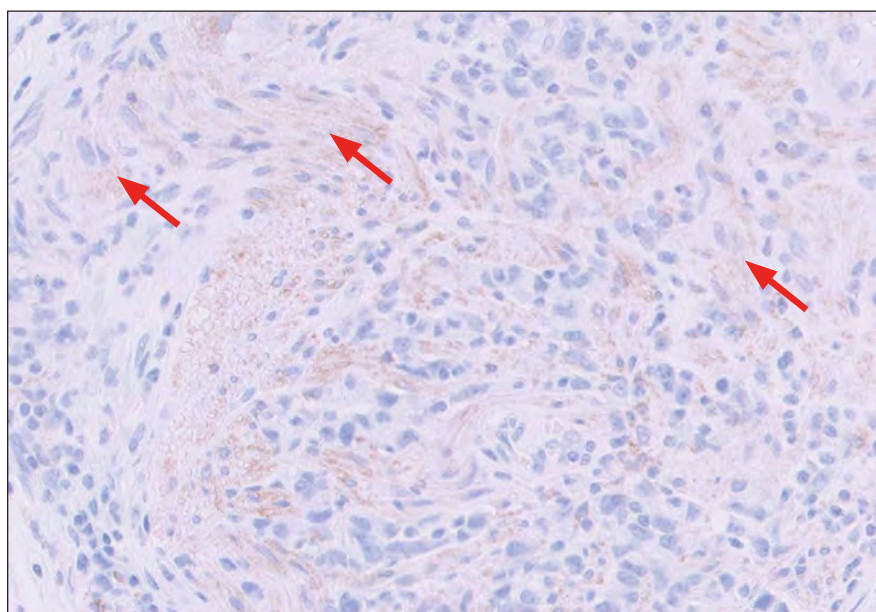
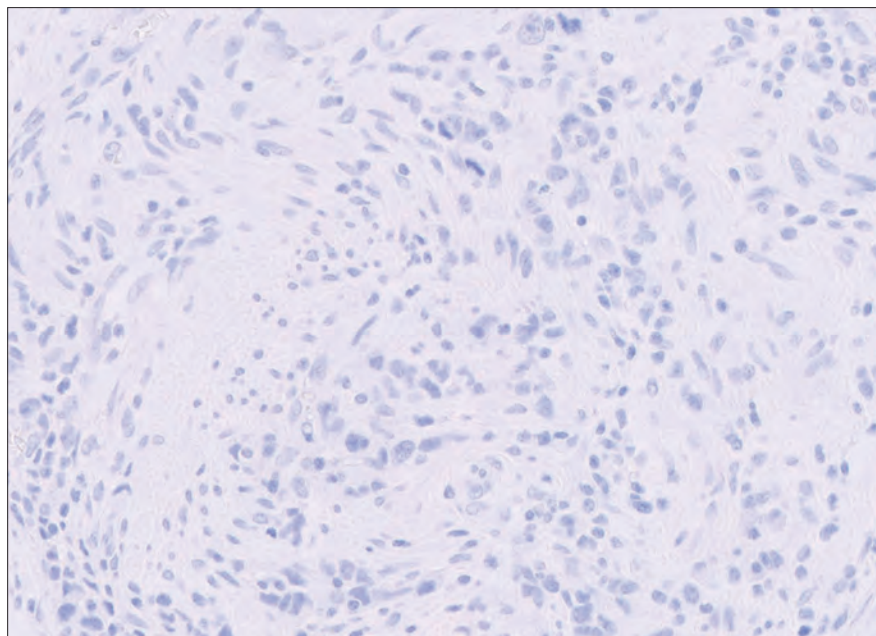


図 31a: 末梢神経細胞に、強度 1+ 以下のスコアリング不可能な特異的細胞質染色を示す胃癌検体（矢印）。一次抗体陰性コントロールスライド（上）には同様の染色が認められないことにより、PD-L1 スライド（下）の細胞質染色が特異的であることが示されていますが、末梢神経細胞などの正常細胞はスコアリングから除外します（対物レンズ 20 倍）。

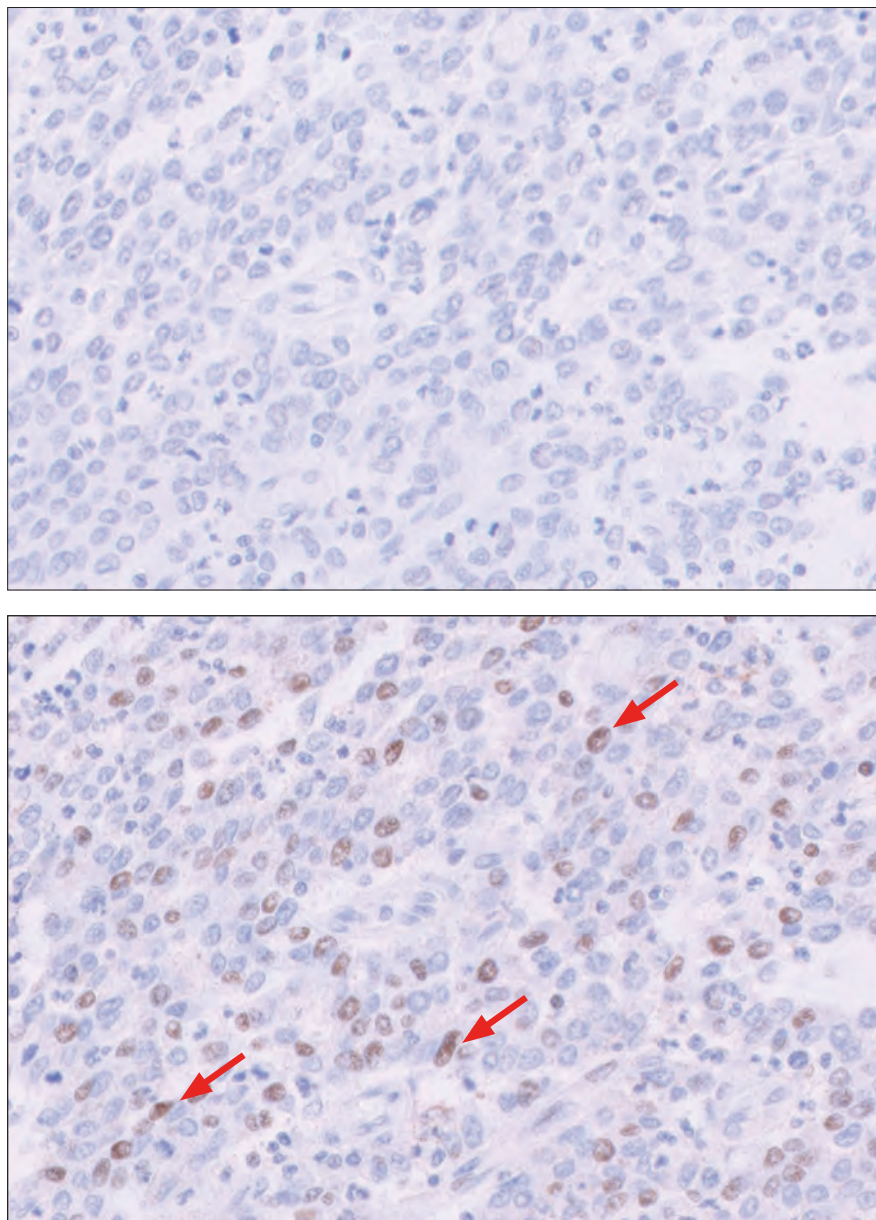


図 31b: 腫瘍細胞の核染色を示す胃癌検体。一次抗体陰性コントロールスライド（上）には核染色が認められず、PD-L1 染色スライド（下）には認められることから、この核染色が特異的染色であることが示されています。核はスコアリングできない細胞内コンパートメントであり、核の反応性は腫瘍細胞の膜染色の評価を妨げないため、この PD-L1 染色スライドは評価可能であると考えられます（対物レンズ 20 倍）。

非特異的染色

非特異的核染色などの非特異的染色は、抗 PD-L1 抗体/PD-L1 抗原の相互作用に関連せず、一次抗体陰性コントロールスライドと PD-L1 染色スライドの両方または一次抗体陰性コントロールスライドのみに認められる、色素原関連染色と定義されます。これには、さまざまな要因が関与します。このような要因には以下が含まれますが、これだけに限定されません。

- 中性緩衝ホルマリン以外の固定液の使用など、推奨されていない前処理工程（推奨しません）
- 脱パラフィン不良
- 染色時のスライドの洗浄不良
- スライドの乾燥：乾燥させないために、ダコ Autostainer Link 48 にスライドを載せる際、または、機器稼働前の待機時には、洗浄液でスライド表面を覆い、湿润状態を維持してください。染色中もスライドが乾燥しないように注意してください。
- 検出システムにおける二次抗体の交差反応
- 試薬のトラップ（切片の折れや乾燥、「粘着性」のある組織または、軟骨、筋線維、緻密線維、ムチン、壊死組織片などの物質との疎水性またはイオン性相互作用）

一次抗体陰性コントロールで染色した検体の非特異的染色状態と、PD-L1 抗体で染色した検体上の非特異的染色状態を照らし合わせることで、その程度を把握することができます。PD-L1 発現率の判定の許容範囲内となるには、すべての組織検体において、非特異的染色は $\leq 1+$ である必要があります。

細胞核の染色が、PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」の一次抗体で染色された検体スライドと一次抗体陰性コントロールスライドの両方に認められる場合、または一次抗体陰性コントロールスライドのみに認められる場合、非特異的核染色とみなされます。また、染色が認められる場合には、PD-L1 染色スライドおよび一次抗体陰性コントロールスライドの両方のスコアリング可能な腫瘍領域内での強度が $1+$ 以下である必要があり、スコアリングから除外します。一次抗体陰性コントロールスライド、または一次抗体陰性コントロールスライドおよび PD-L1 染色スライドの両者において、スコアリング可能な腫瘍領域内に強度 1 を超える非特異的核染色を認めた場合は、スコアリング不可とし、検体の再染色を実施します。

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」による非特異的染色は稀です。

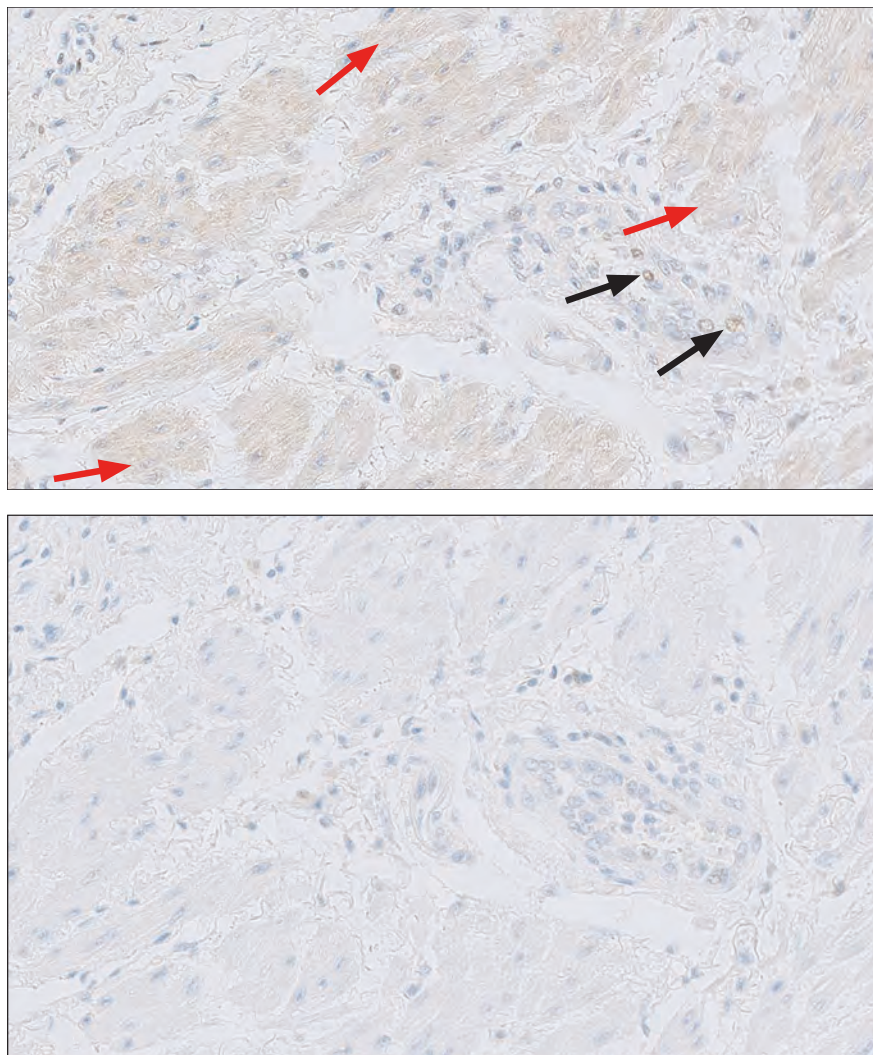


図 32a: 平滑筋細胞（赤矢印）と、まれに内皮細胞核（黒矢印）に許容範囲内（強度 $\leq 1+$ ）の非特異的染色を示す一次抗体陰性コントロールで染色した食道腺癌検体（上）。この場合、非特異的染色が PD-L1 染色スライド（下）には認められないことにご注意ください（対物レンズ 20 倍）。

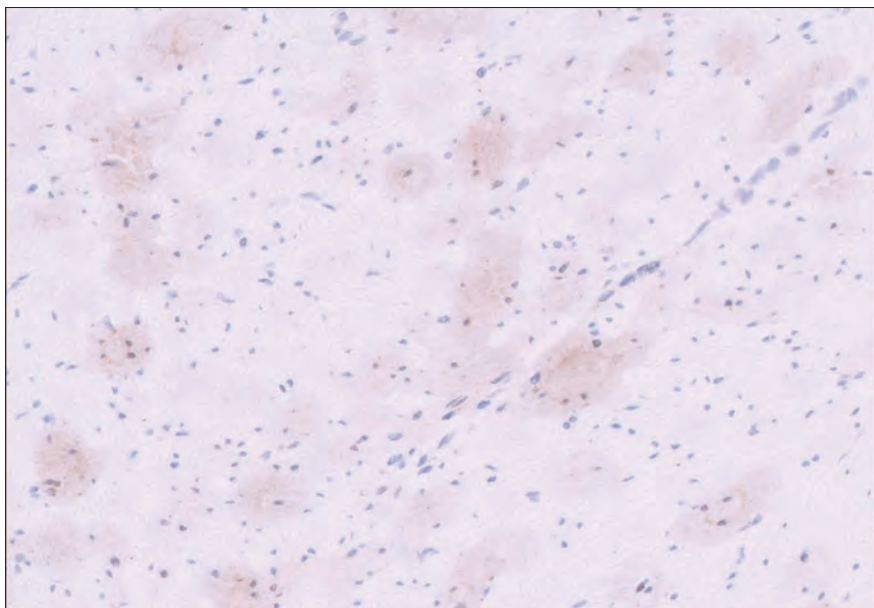


図 32b: PD-L1 一次抗体で染色した胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。許容可能な強度 $\leq 1+$ の非特異的 DAB 液滴染色が認められます。

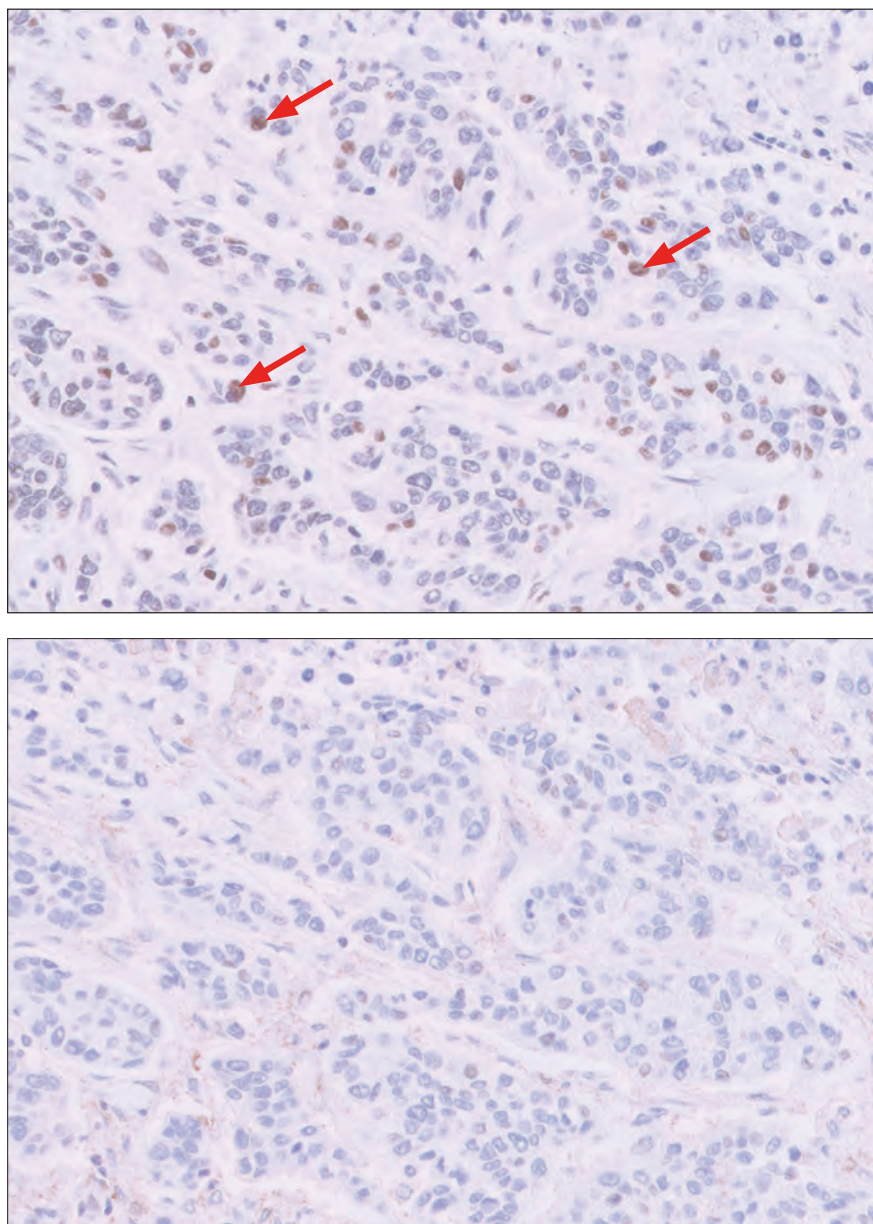


図 32c: 非特異的核染色を示す (矢印) 胃癌検体。一次抗体陰性コントロールスライド (上) と PD-L1 染色スライド (下) の両方に認められますが、一次抗体陰性コントロールスライドの方が強度が強い (強度 1+ 以上) です。一次抗体陰性コントロールスライドと PD-L1 染色スライドの両方、または一次抗体陰性コントロールスライドにのみ認められる核染色を含む非特異的染色の許容基準は、強度 1+ 以下であるため、この場合の PD-L1 染色スライドは判定不可と見なします (対物レンズ 20 倍)。

重要なポイント

すべての組織検体において、核染色を含む非特異的染色は $\leq 1+$ である必要があります。

エッジアーチファクト

組織検体辺縁部の非特異的染色の増強は、「エッジアーチファクト」と言われます。

- エッジアーチファクトは一般に、3-in-1 前処理手順の実行後（つまり、ダコ Autostainer Link 48 に載せた後や染色手順中のいずれかの時点）の組織切片の乾燥が原因です。
- 辺縁部で少数の細胞層が染色されているが、腫瘍中心部はまったく染色されていないなど陽性反応が組織切片の辺縁部のみに認められる場合、組織検体の辺縁部でのスコアリングは行わないでください。
- 前処理段階の組織片が厚すぎた場合にも、の組織辺縁部分と比較して組織中心部分が十分に固定されず、エッジアーチファクトに類似した染色像を呈することがあります。このような場合、組織辺縁部のみが適切に染色されることで、適切に染色されてこない組織中央部の評価を陰性と誤ってしまうことがあります。

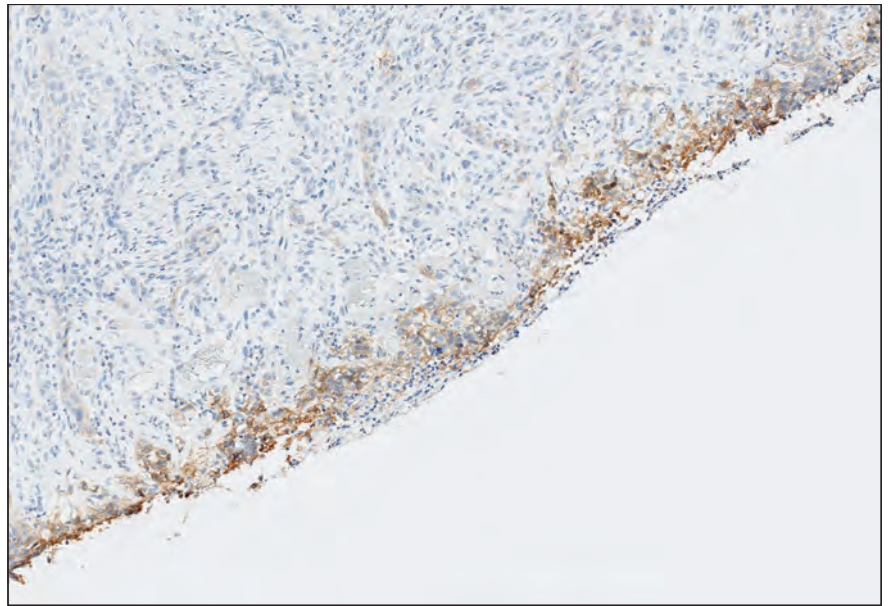


図 33: PD-L1 一次抗体で染色したエッジアーチファクト染色を示す胃癌検体。エッジアーチファクトはスコアリングから除外します（対物レンズ 5 倍）。

重要なポイント

これらの要因により残りの組織検体部分が染まりムラ（不均一性）を呈していると考えられる場合や、特徴から非特異的であると考えられる場合には、辺縁部のスコアリングは避けてください。

クラッシュアーチファクト

検体採取の際に、強い力が加わったことにより、組織が挫滅し、形態学的に組織構造に歪みを生じます。挫滅した細胞は、強い非特異染色を示すことがあるためスコアリングから除外します。

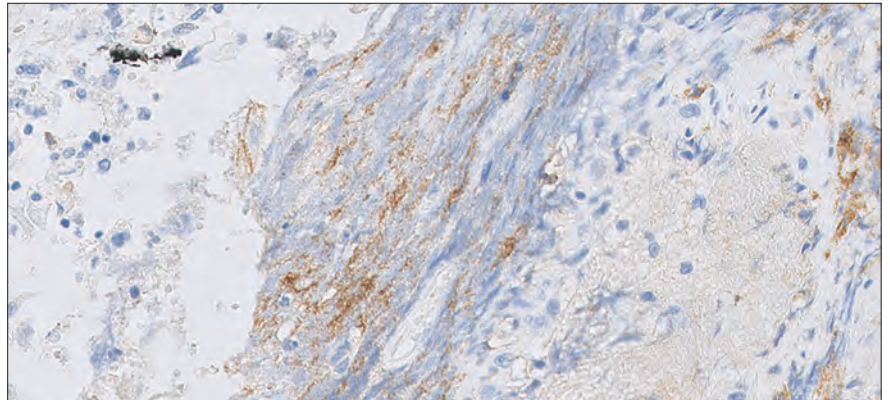


図 34: PD-L1 一次抗体で染色された、クラッシュアーチファクトを示す食道癌検体。クラッシュアーチファクトはスコアリングから除外します（対物レンズ 20 倍）。

重要なポイント

クラッシュアーチファクト部位でのスコアリングは避けてください。

固定不良

固定法の標準化は、PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」の使用において、きわめて重要です。組織固定が最適でない場合、染色結果に影響を与える可能性があります。

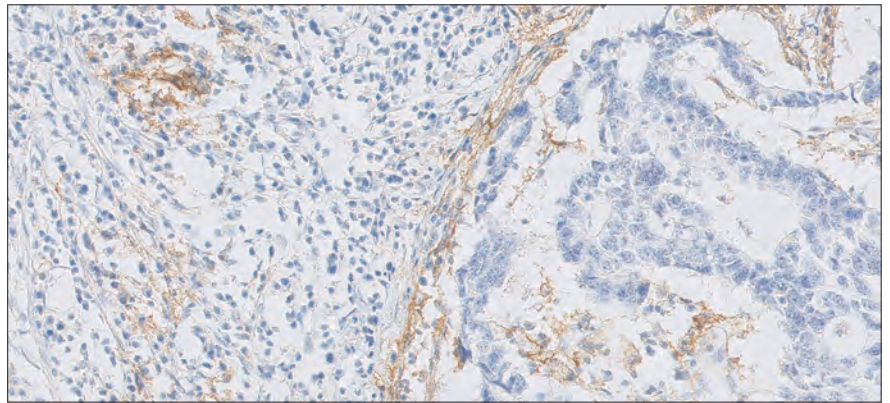


図 35: PD-L1 一次抗体で染色した組織固定が不十分な食道癌検体（対物レンズ 20 倍）。

重要なポイント

PD-L1 の正確な評価には、適切な組織固定法が重要です。固定が不十分な部位はスコアリングから除外してください。

ヘモシデリン

ヘモシデリン色素が胃癌組織に認められることがあり、この色素はよく黄金色を呈し、DAB 染色と混同される場合があります。ヘモシデリン色素は無視し、スコアリングからも除外します。一次抗体陰性コントロールスライドを使用することで、ヘモシデリン色素と DAB 染色を区別するのに有用です。

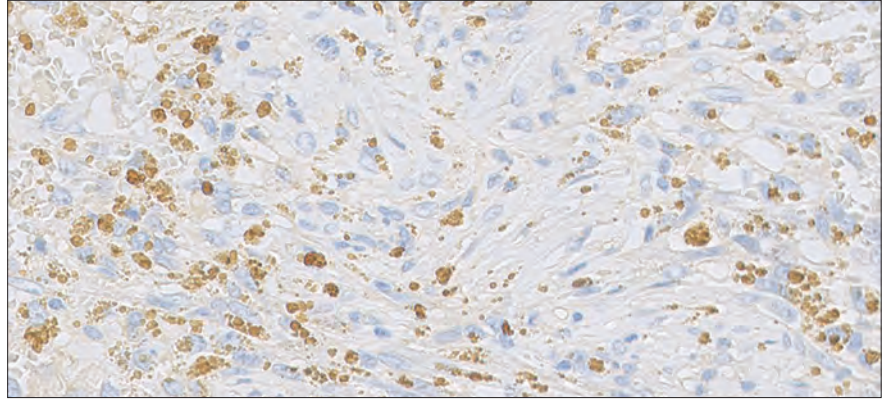


図 36: PD-L1 一次抗体で染色したトリプルネガティブ乳癌 (TNBC) 検体 (対物レンズ 20 倍)。黄金色のヘモシデリン色素の染色が認められます。

壊死

壊死は細胞死を示す形態学的変化ですが、その詳細は明確に定義されていません。PD-L1 抗体で染色された壊死領域が胃癌検体に認められることがありますが、スコアリングから除外します。

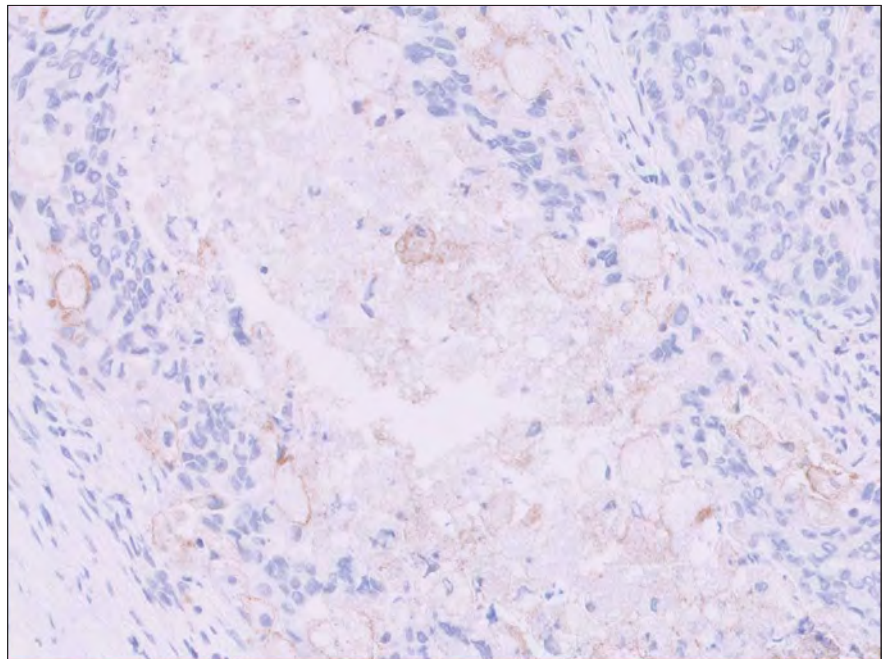


図 37: PD-L1 一次抗体で染色した壊死領域の染色を示す胃癌検体。壊死部の染色を示す細胞はスコアリングから除外します (対物レンズ 20 倍)。

重要なポイント

PD-L1 陽性の壊死領域はスコアリングから除外します。

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」の CPS の症例

症例 1: CPS 0

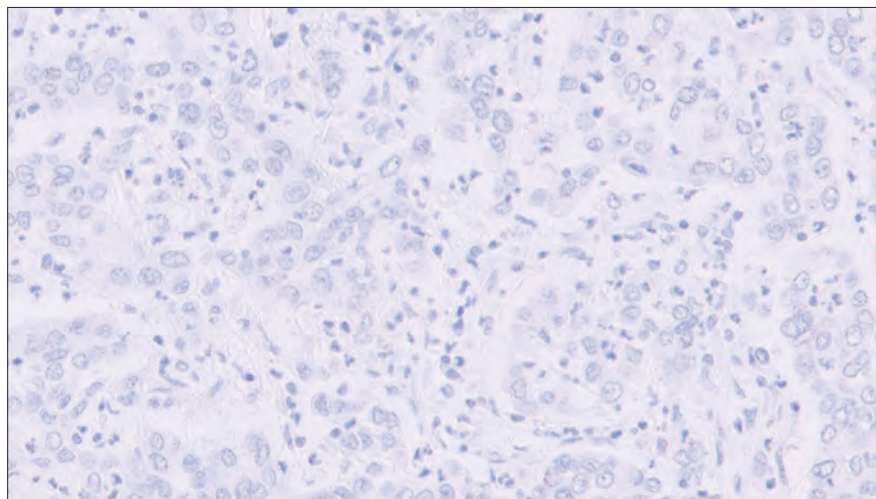


図 38: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 0 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）

症例 2: CPS 0

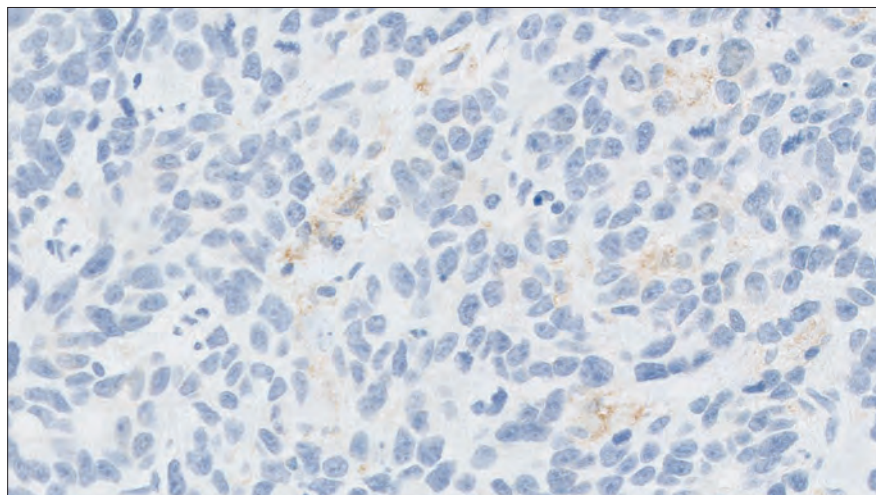


図 39: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 0 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。注意事項: この視野には PD-L1 陽性細胞がありますが、その数はスコアが CPS 1 になるには十分ではありません。CPS は常に整数で報告します（分数を含めません）。したがって、この場合のスコアは CPS 0 と報告します。

症例 3: CPS 0

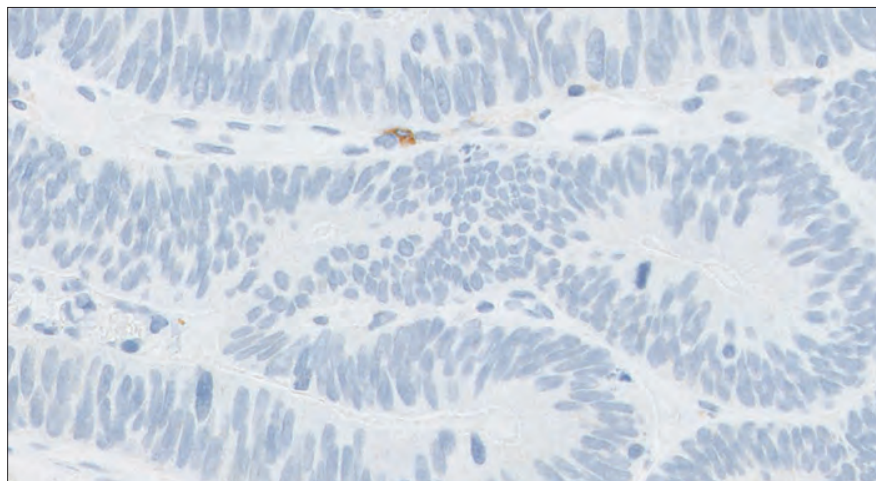


図 40: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 0 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。注意事項: この視野には PD-L1 陽性細胞がありますが、その数はスコアが CPS 1 になるには十分ではありません。CPS は常に整数で報告します（分数を含めません）。したがって、この場合のスコアは CPS 0 と報告します。

症例 4: CPS 0

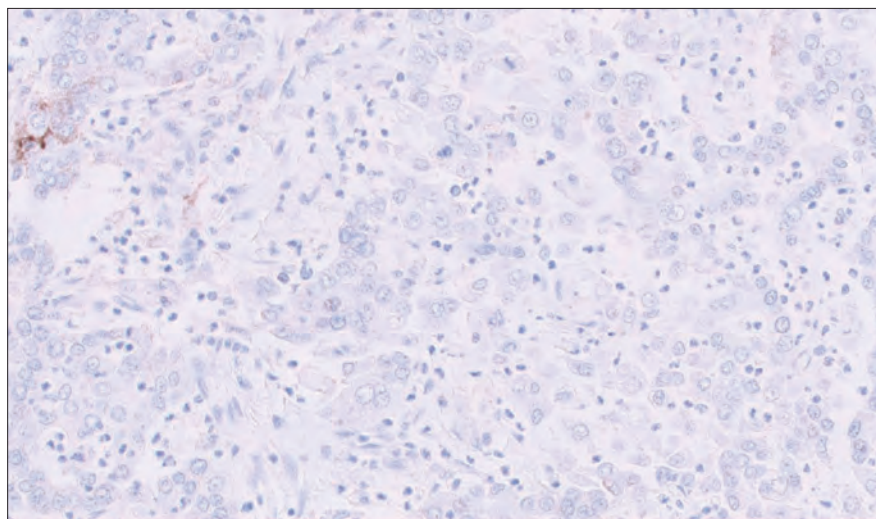


図 41: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 0 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。注意事項: この視野には PD-L1 陽性細胞がありますが、その数はスコアが CPS 1 になるには十分ではありません。CPS は常に整数で報告します（分数を含めません）。したがって、この場合のスコアは CPS 0 と報告します。

症例 5: CPS 0

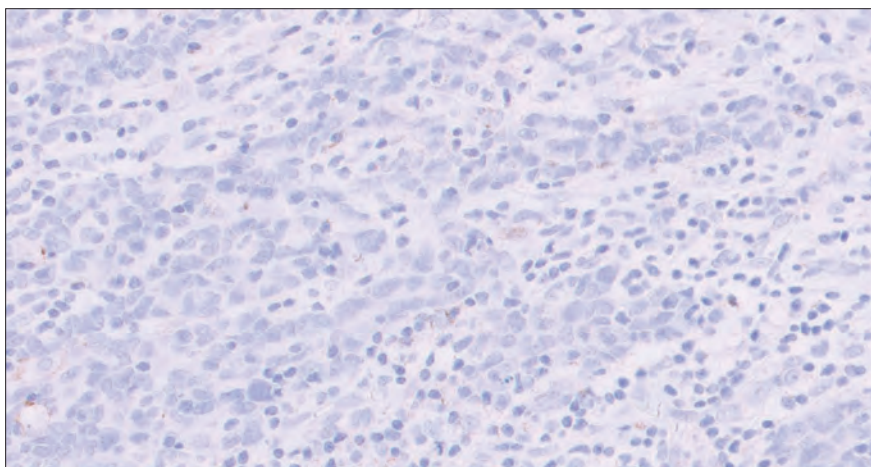


図 42: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 0 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。注意事項: この視野には PD-L1 陽性細胞がありますが、その数はスコアが CPS 1 になるには十分ではありません。CPS は常に整数で報告します（分数を含めません）。したがって、この場合のスコアは CPS 0 と報告します。

症例 6: CPS 0

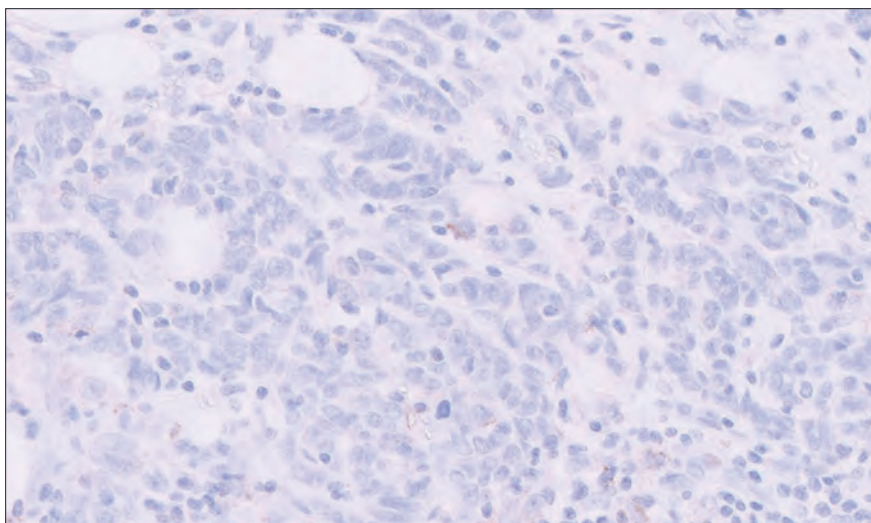


図 43: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 0 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。注意事項: この視野には PD-L1 陽性細胞がありますが、その数はスコアが CPS 1 になるには十分ではありません。CPS は常に整数で報告します（分数を含めません）。したがって、この場合のスコアは CPS 0 と報告します。

症例 7: CPS 0

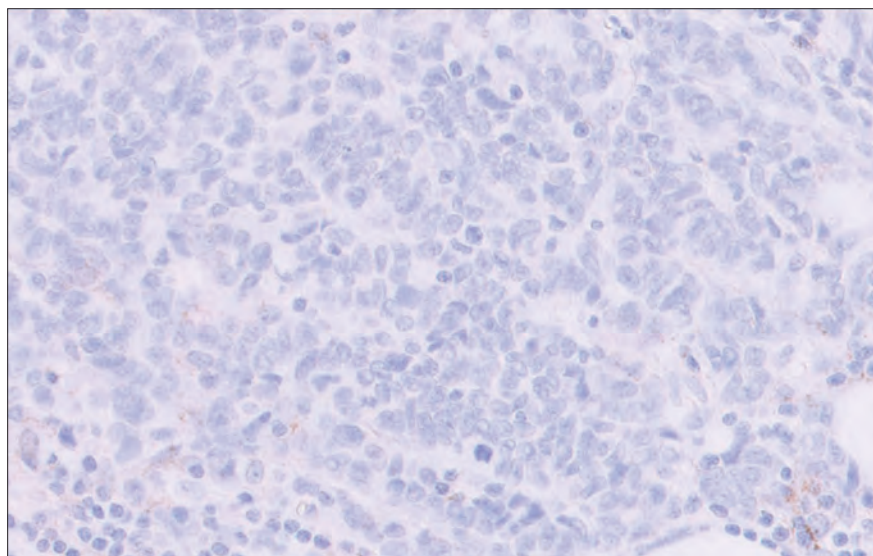


図 44: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 0 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。注意事項: この視野には PD-L1 陽性細胞がありますが、その数はスコアが CPS 1 になるには十分ではありません。CPS は常に整数で報告します（分数を含めません）。したがって、この場合のスコアは CPS 0 と報告します。

症例 8: CPS 0

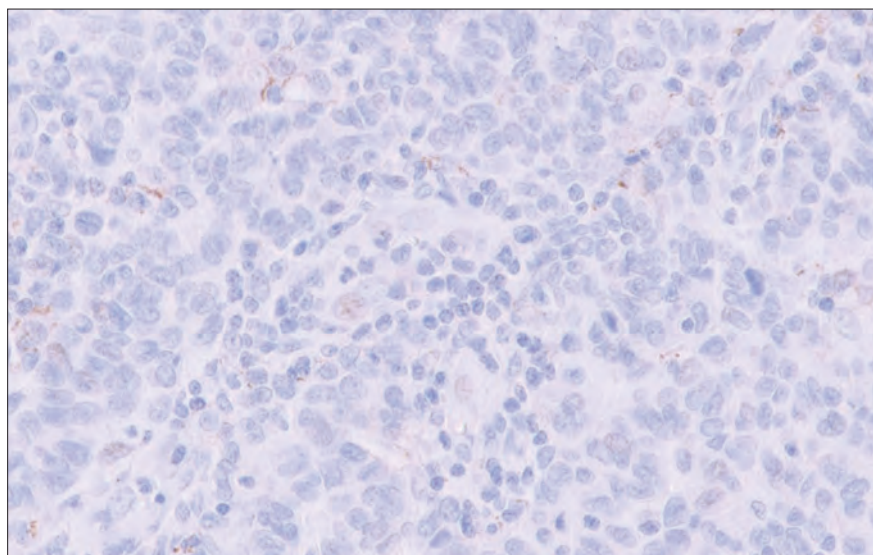


図 45: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 0 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。注意事項: この視野には PD-L1 陽性細胞がありますが、その数はスコアが CPS 1 になるには十分ではありません。CPS は常に整数で報告します（分数を含めません）。したがって、この場合のスコアは CPS 0 と報告します。

症例 9: CPS 2

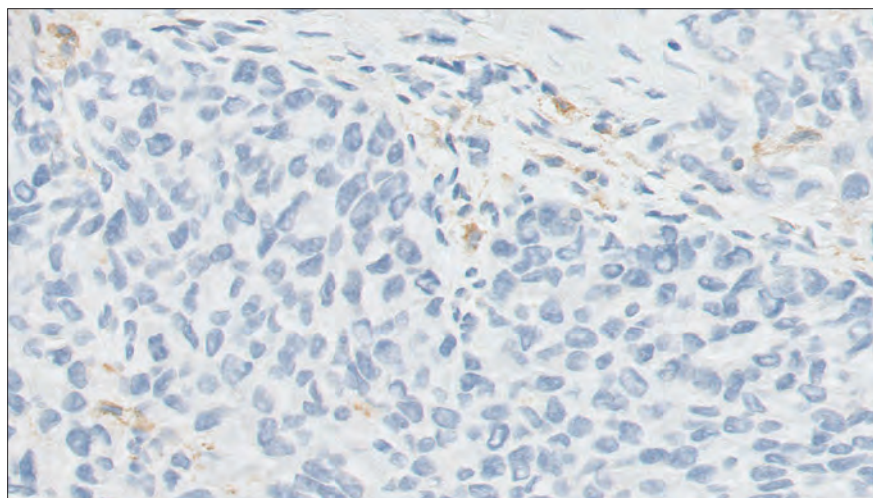


図 46: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 2 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。ただし、この画像には CPS 1 ～ 5 が割り当てられる可能性があります。

症例 10: CPS 2

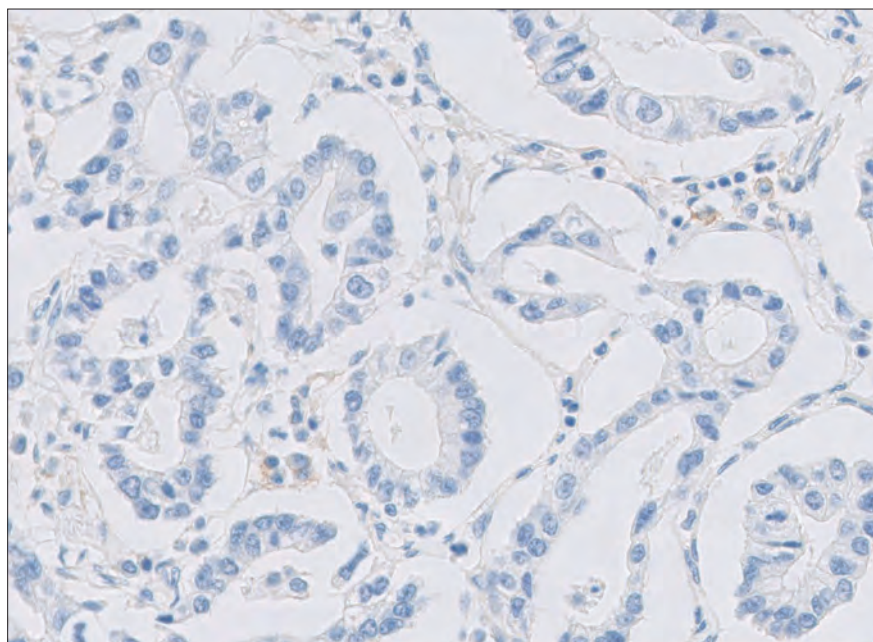


図 47: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 2 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。ただし、この画像には CPS 1 ～ 3 が割り当てられる可能性があります。

症例 11: CPS 2

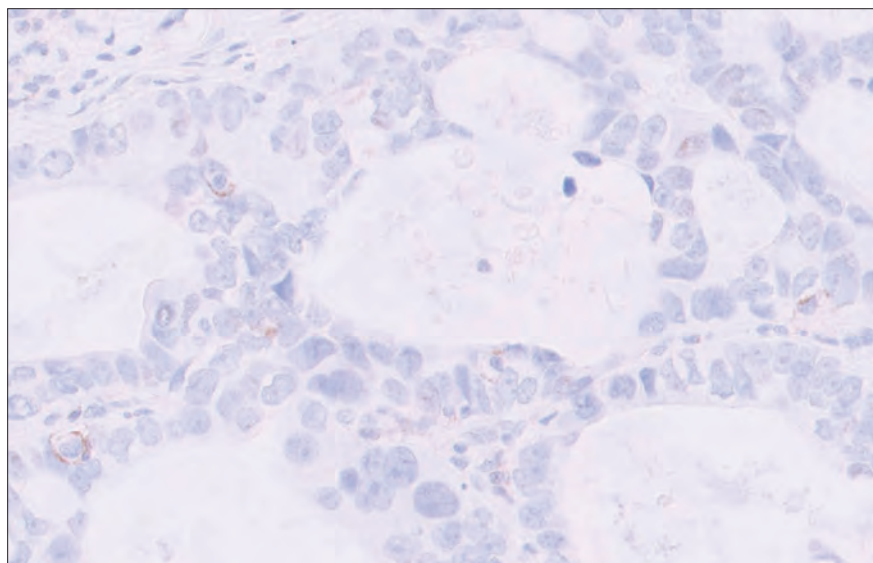


図 48: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 2 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。ただし、この画像には CPS 1 ～ 4 が割り当てられる可能性があります。

症例 12: CPS 3

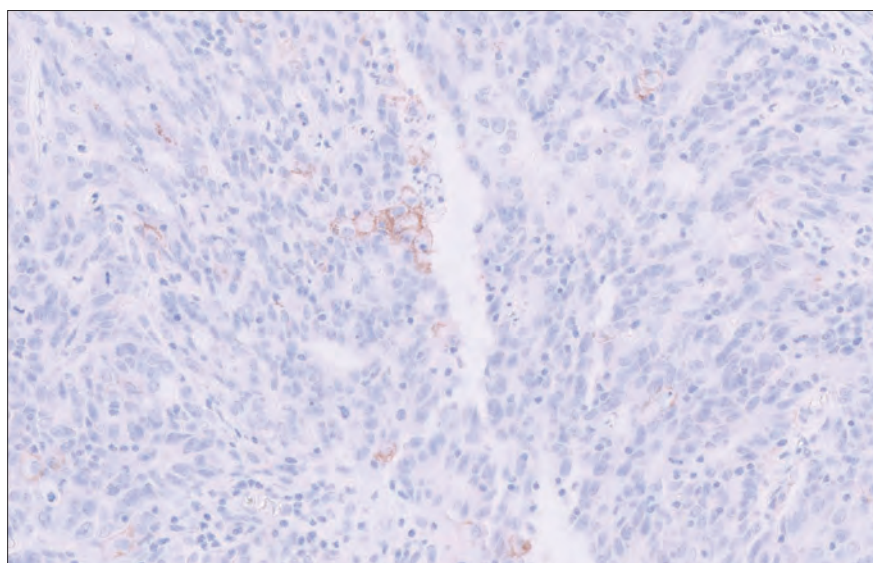


図 49: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 3 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。ただし、この画像には CPS 1 ～ 5 が割り当てられる可能性があります。

症例 13: CPS 4

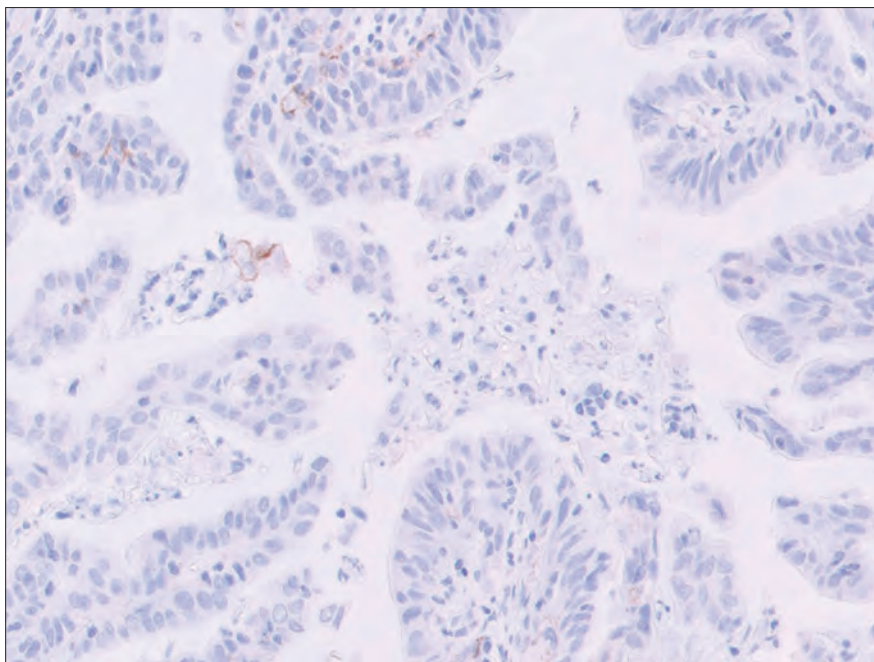


図 50: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 4 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。ただし、この画像には CPS 2 ～ 5 が割り当てられる可能性があります。

症例 14: CPS 5

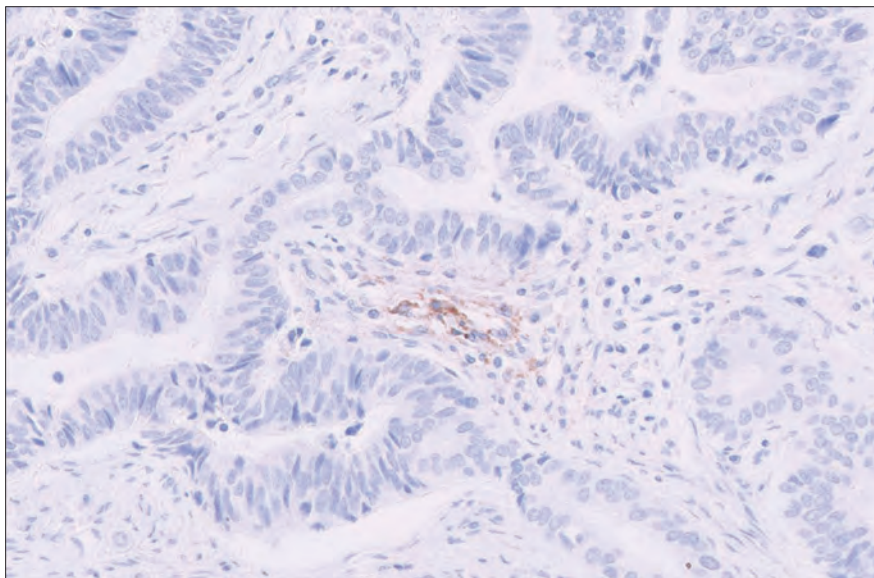


図 51: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 5 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。ただし、この画像には CPS 4 ～ 6 が割り当てられる可能性があります。

症例 15: CPS 5

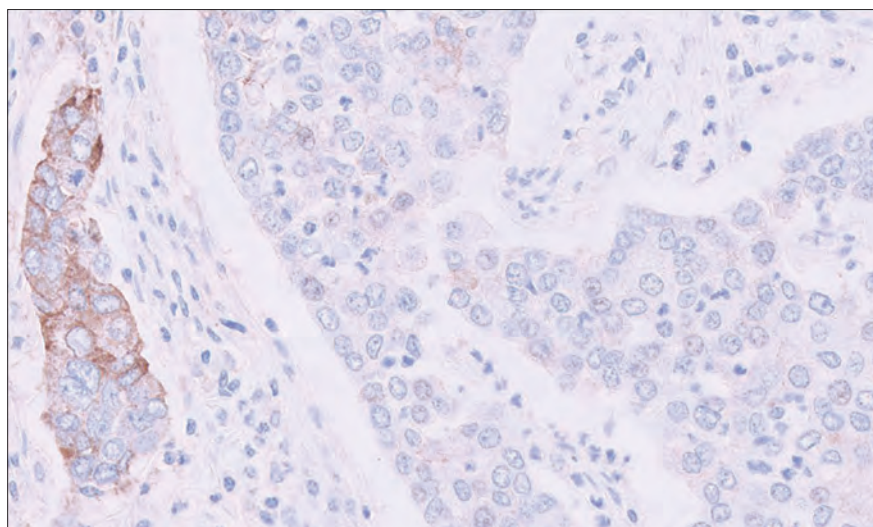


図 52: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 5 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。ただし、この画像には CPS 4 ～ 6 が割り当てられる可能性があります。

症例 16: CPS 6

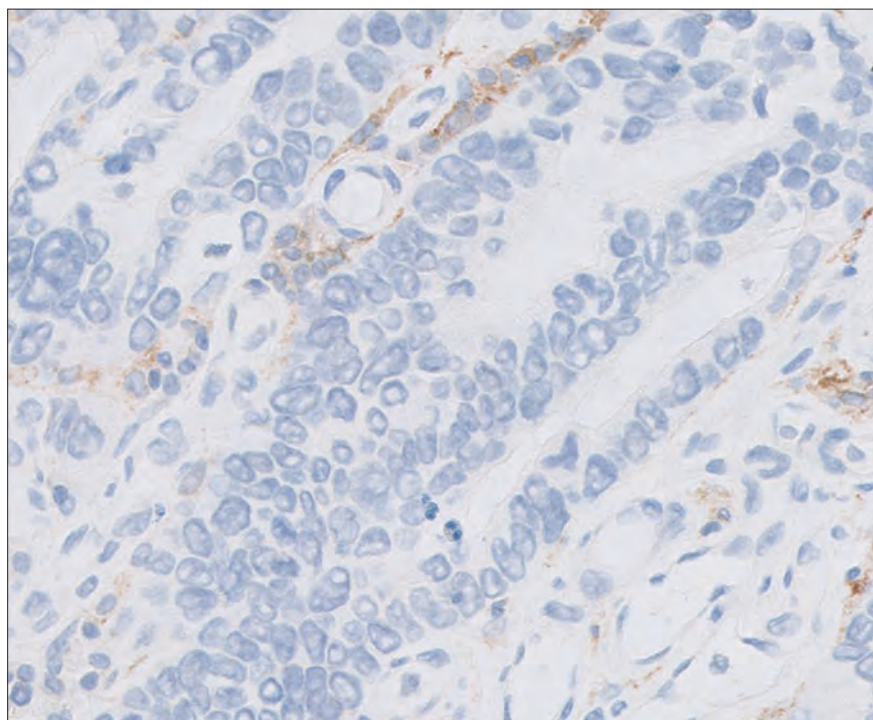


図 53: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 6 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。ただし、この画像には CPS 5 ～ 9 が割り当てられる可能性があります。

症例 17: CPS 7

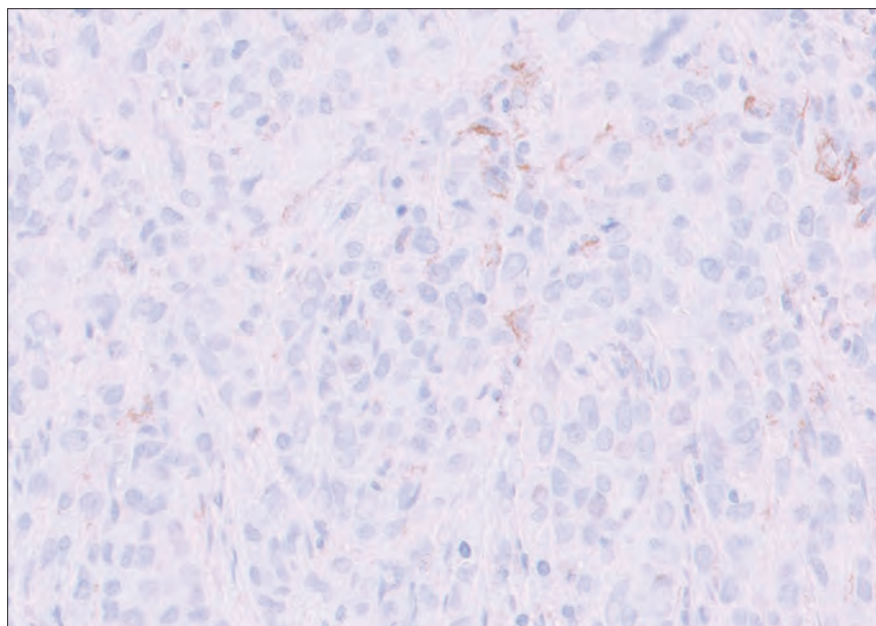


図 54: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 7 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。ただし、この画像には CPS 6 ～ 9 が割り当てられる可能性があります。

症例 18: CPS 7

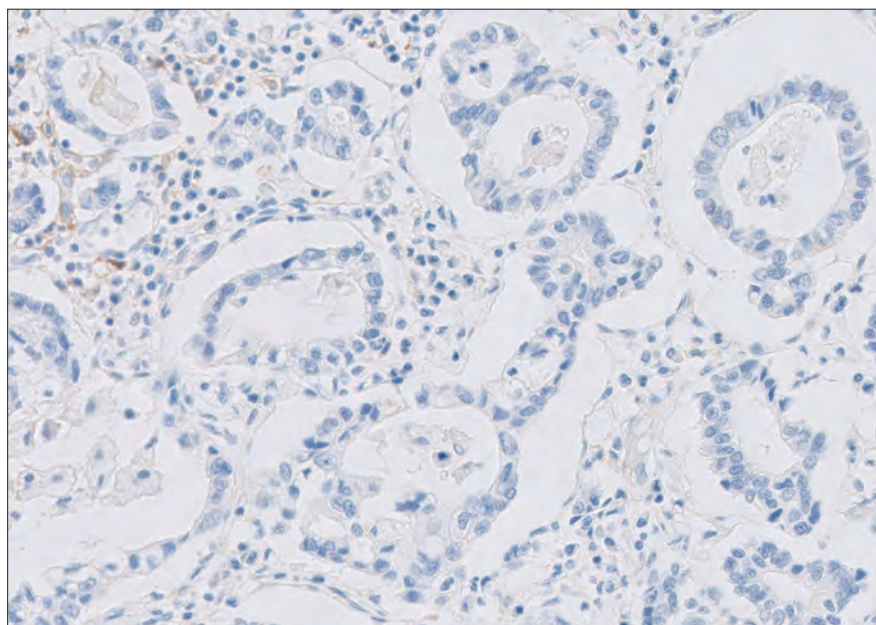


図 55: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 7 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。ただし、この画像には CPS 5 ～ 9 が割り当てられる可能性があります。

症例 19: CPS 12

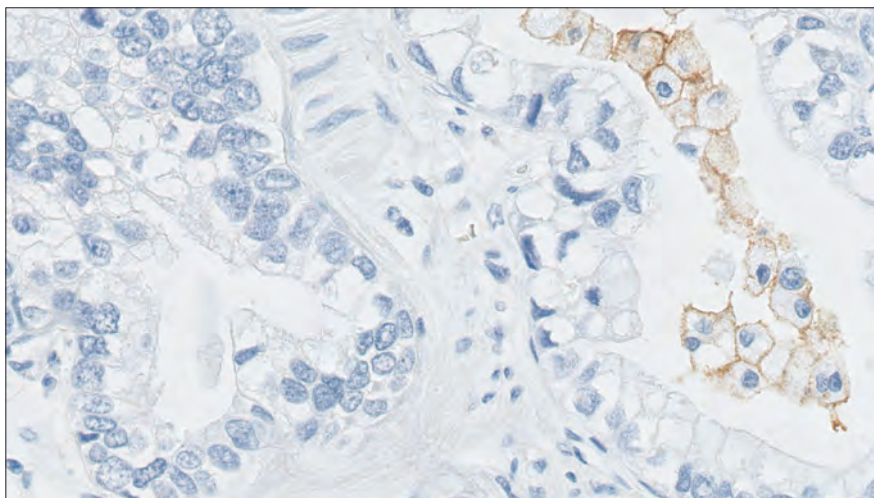


図 56: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 12 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。ただし、この画像には CPS 10 ～ 14 が割り当てられる可能性があります。

症例 20: CPS 12

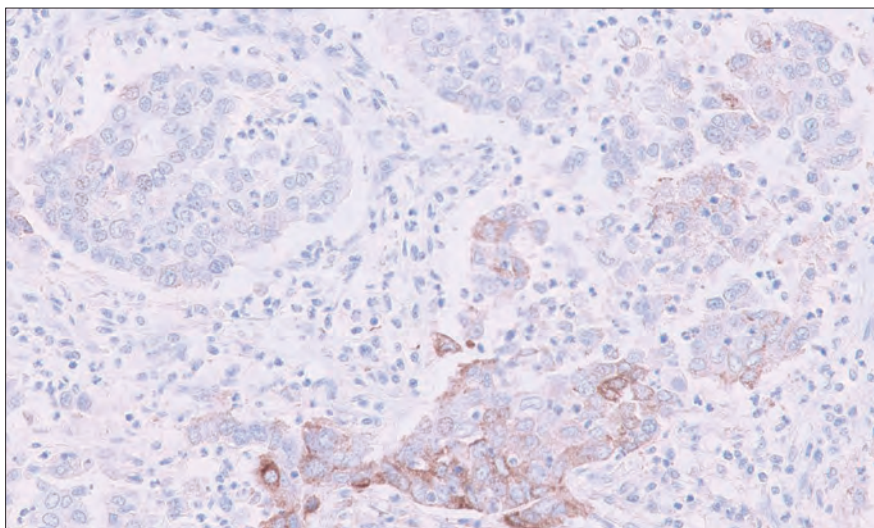


図 57: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 12 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。ただし、この画像には CPS 10 ～ 15 が割り当てられる可能性があります。

症例 21: CPS 14

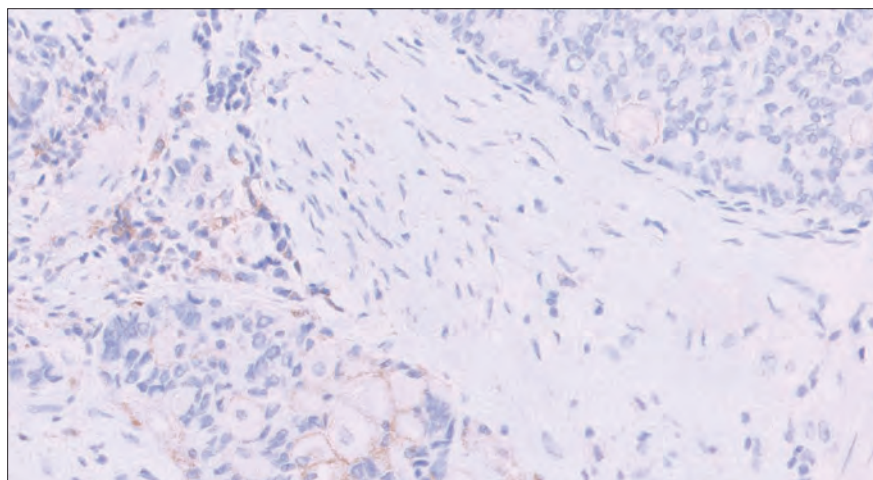


図 58: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 14 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。ただし、この画像には CPS 12 ～ 16 が割り当てられる可能性があります。

症例 22: CPS 15

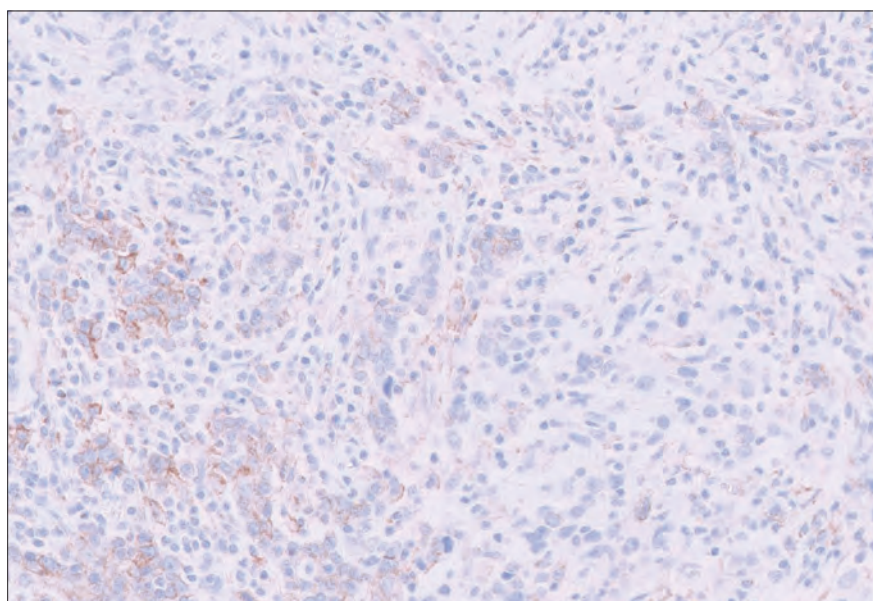


図 59: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 15 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。ただし、この画像には CPS 12 ～ 18 が割り当てられる可能性があります。

症例 23: CPS 15

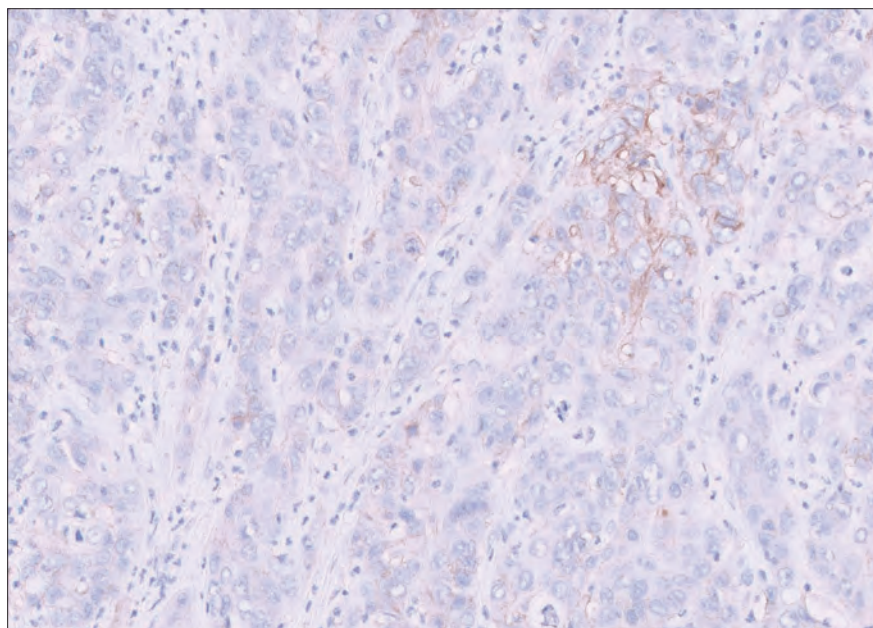


図 60: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 15 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。ただし、この画像には CPS 11 ～ 18 が割り当てられる可能性があります。

症例 24: CPS 17

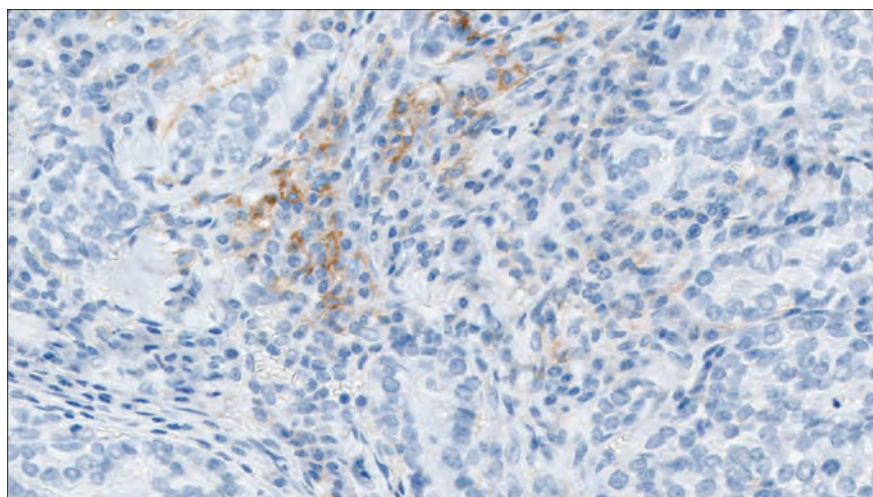


図 61: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 17 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。ただし、この画像には CPS 15 ～ 19 が割り当てられる可能性があります。

症例 25: CPS 18

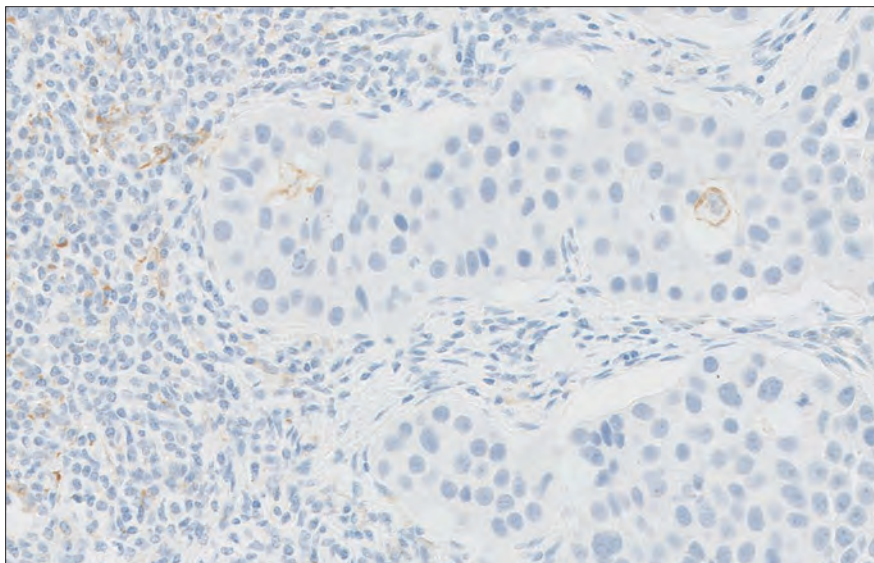


図 62: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 18 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。ただし、この画像には CPS 16 ～ 20 が割り当てられる可能性があります。

症例 26: CPS 35

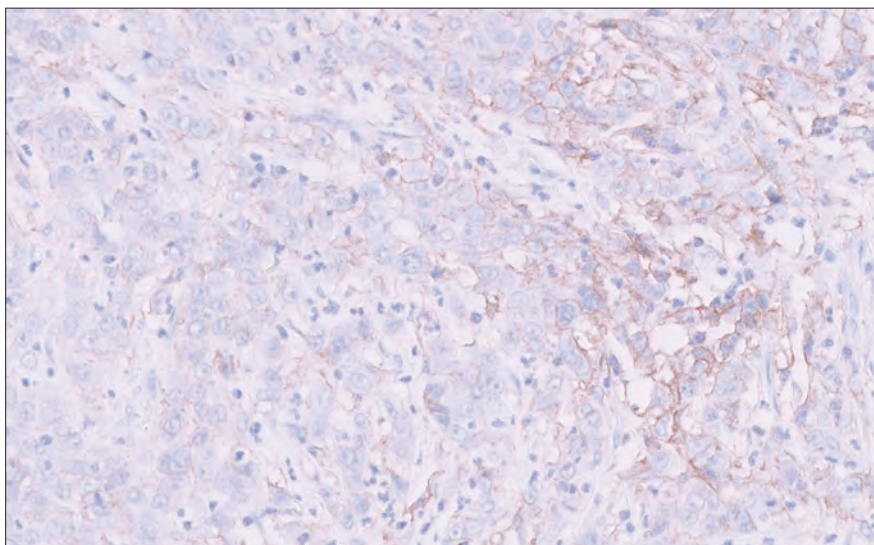


図 63: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 35 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。ただし、この画像には CPS 30 ～ 40 が割り当てられる可能性があります。

症例 27: CPS 40

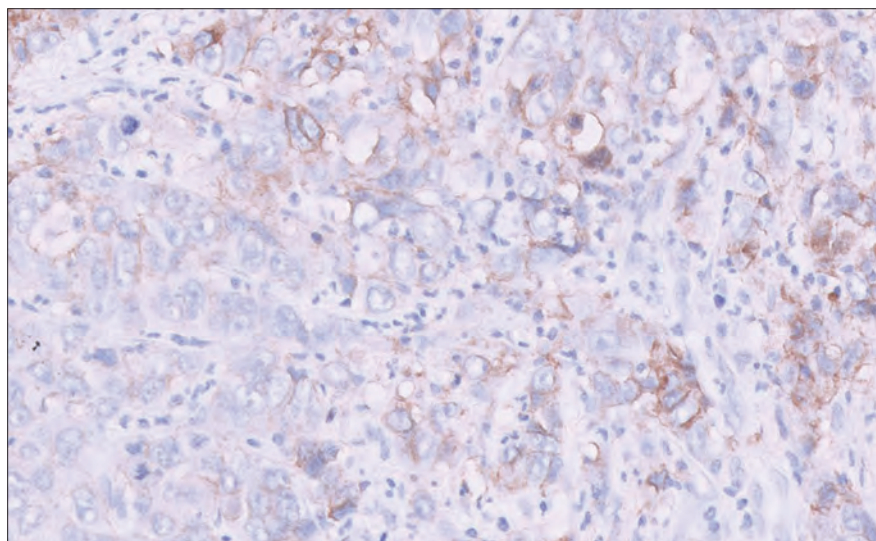


図 64: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 40 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。ただし、この画像には CPS 30 ～ 50 が割り当てられる可能性があります。

症例 28: CPS 50

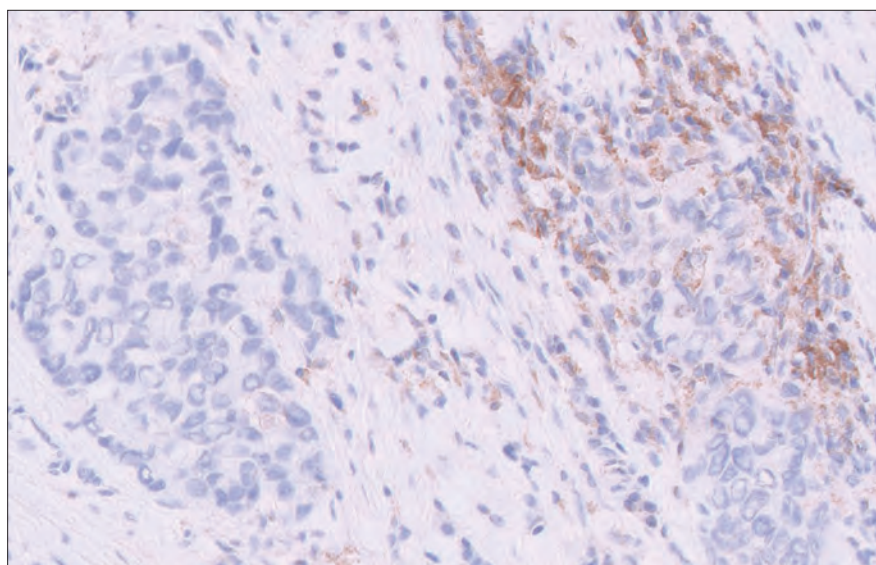


図 65: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 50 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。ただし、この画像には CPS 40 ～ 60 が割り当てられる可能性があります。

症例 29: CPS 50

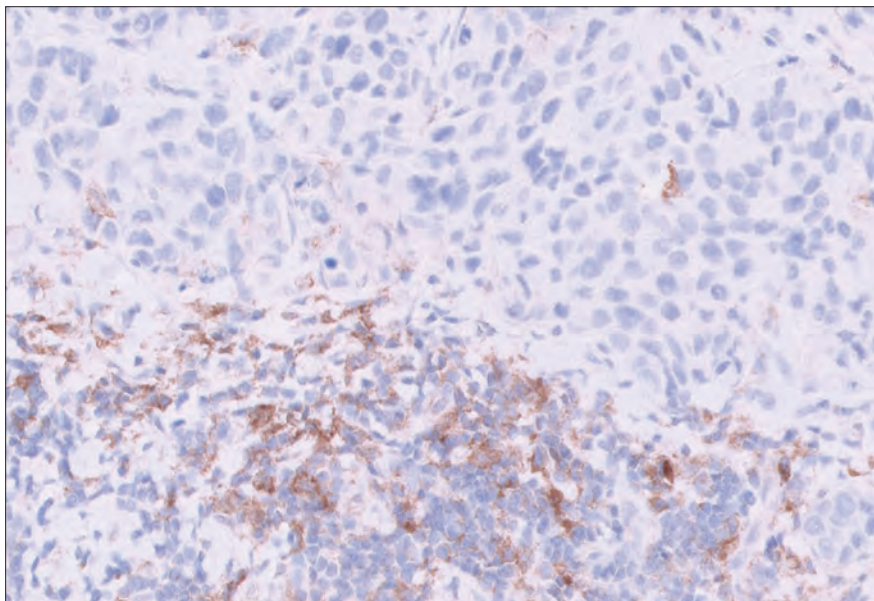


図 66: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 50 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。ただし、この画像には CPS 45 ～ 65 が割り当てられる可能性があります。

症例 30: CPS 65

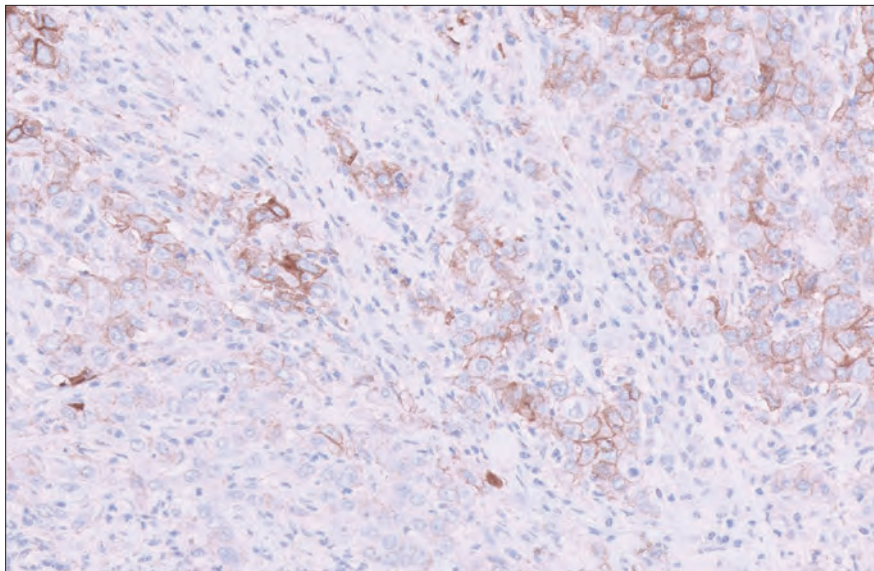


図 67: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 65 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。ただし、この画像には CPS 55 ～ 75 が割り当てられる可能性があります。

症例 31: CPS 70

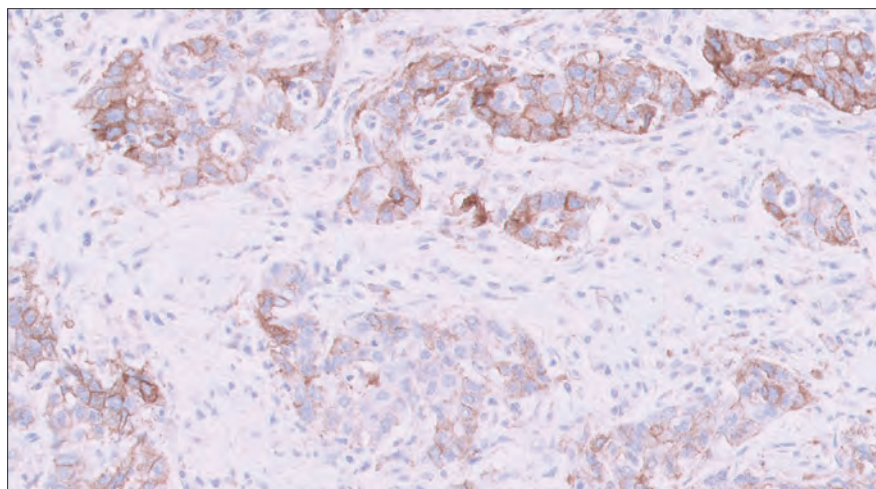


図 68: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 70 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。ただし、この画像には CPS 60 ～ 75 が割り当てられる可能性があります。

症例 32: CPS 75

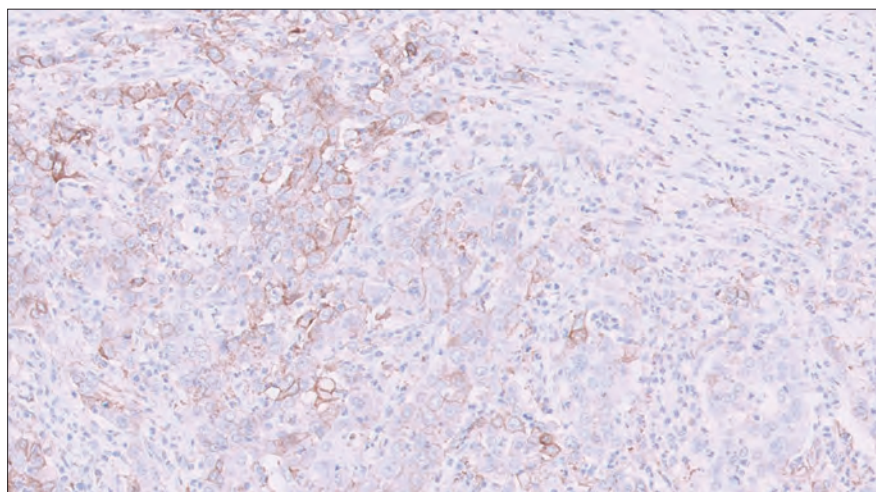


図 69: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 75 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。ただし、この画像には CPS 65 ～ 80 が割り当てられる可能性があります。

症例 33: CPS 75

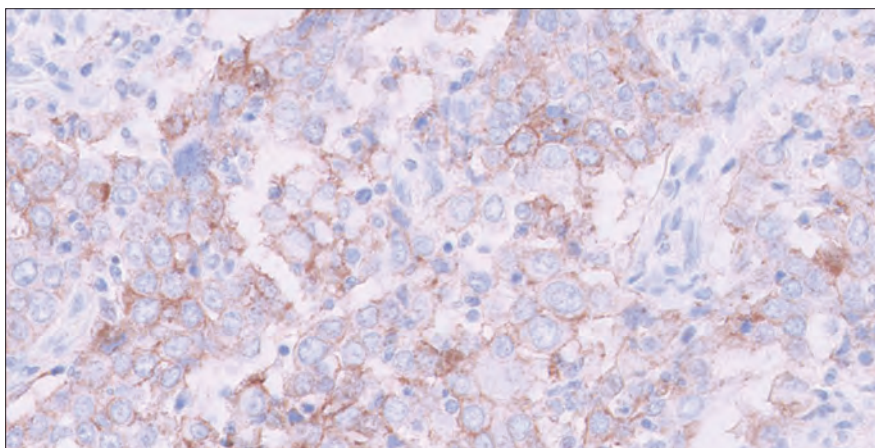


図 70: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 75 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。ただし、この画像には CPS 65 ～ 85 が割り当てられる可能性があります。

症例 34: CPS 75

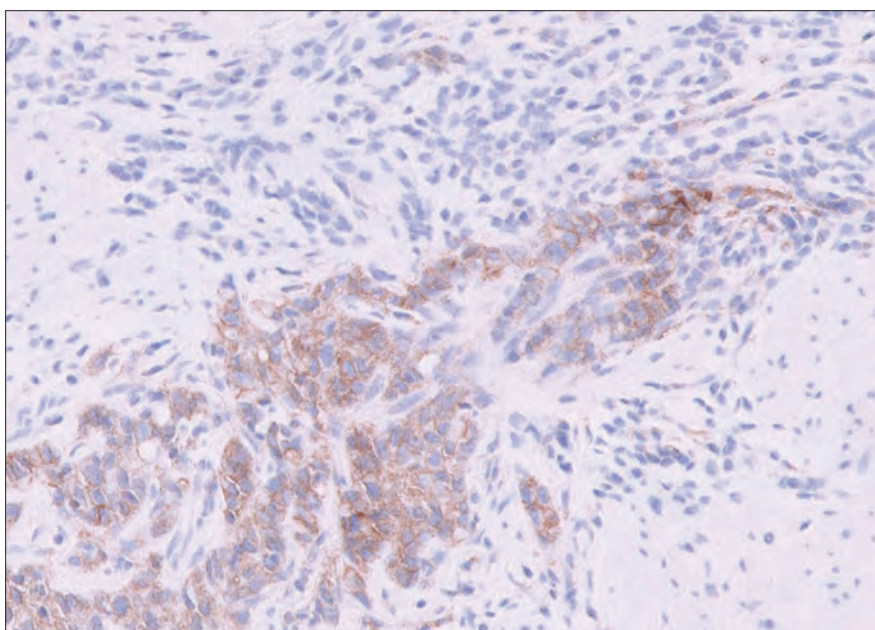


図 71: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 75 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。ただし、この画像には CPS 70 ～ 85 が割り当てられる可能性があります。

症例 35: CPS 75

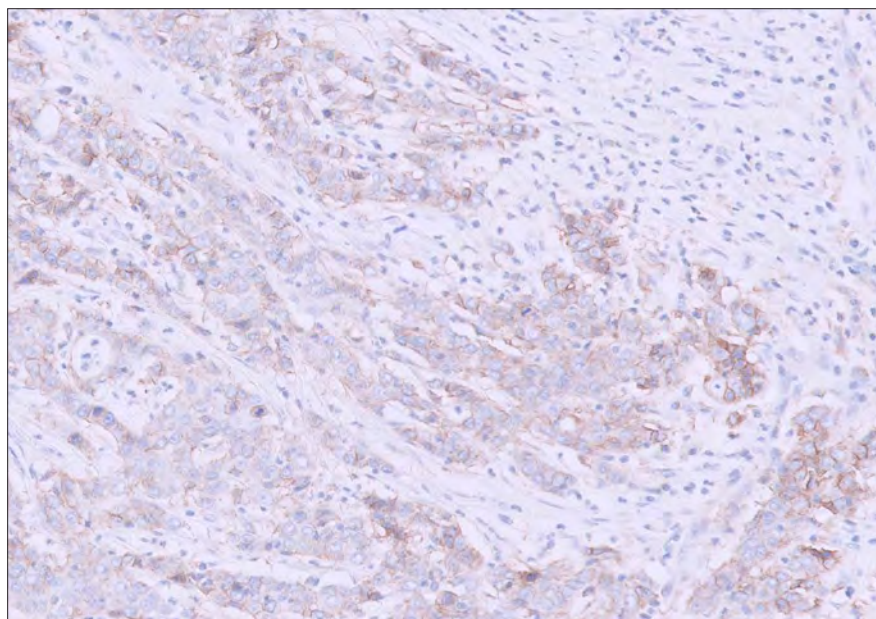


図 72: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 75 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。ただし、この画像には CPS 65 ～ 85 が割り当てられる可能性があります。

症例 36: CPS 95

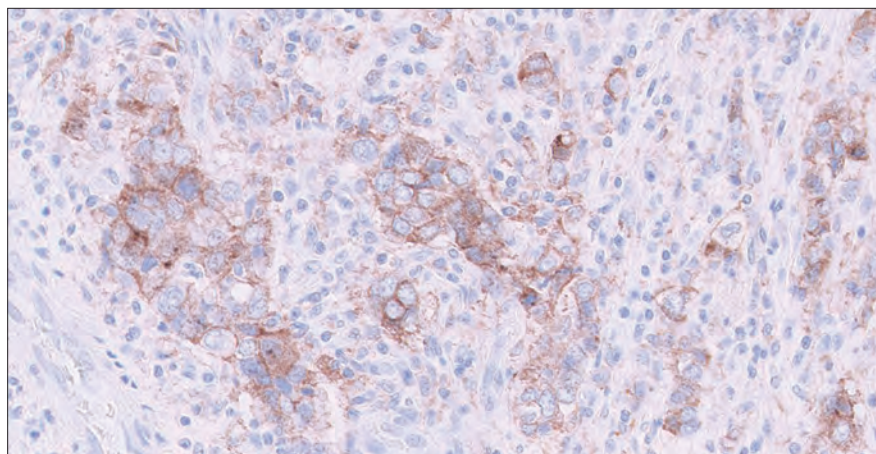


図 73: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 95 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）。ただし、この画像には CPS 85 ～ 98 が割り当てられる可能性があります。

症例 37: CPS 100

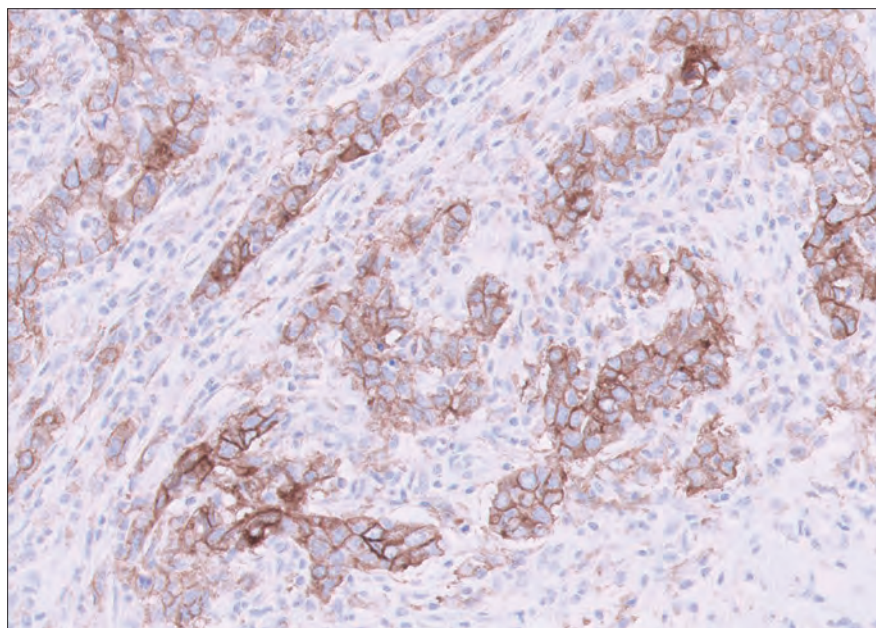


図 74: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 100 を示す胃癌検体（対物レンズ 20 倍）

コントロールスライド（CCL）付録

合格コントロールスライド

合格 PD-L1 陰性コントロール細胞

- 細胞膜染色を呈する細胞なし*
- 非特異的染色強度が 1+ 未満である*

* いくつかの MCF-7 細胞がまれに染色される場合があることに注意してください。次の許容基準が適用されます。明らかな細胞膜染色を呈する細胞が 10 個以下、かつ/または MCF-7 細胞ペレット内にみられる 1+ 以上の非特異的染色は許容されます



図 75: 理想的な MCF-7 細胞（対物レンズ 2 倍）。

合格 PD-L1 陽性コントロール細胞

- 70 % 以上の細胞が細胞膜染色を呈する
- 細胞膜染色を示す細胞の平均染色強度が 2+ 以上
- 非特異的染色強度が 1 + 未満である



図 76: 理想的な NCI-H226 細胞（対物レンズ 2 倍）。

ボーダーライン合格の コントロールスライド

ボーダーライン合格と合格 PD-L1 陽性コントロール細胞との比較

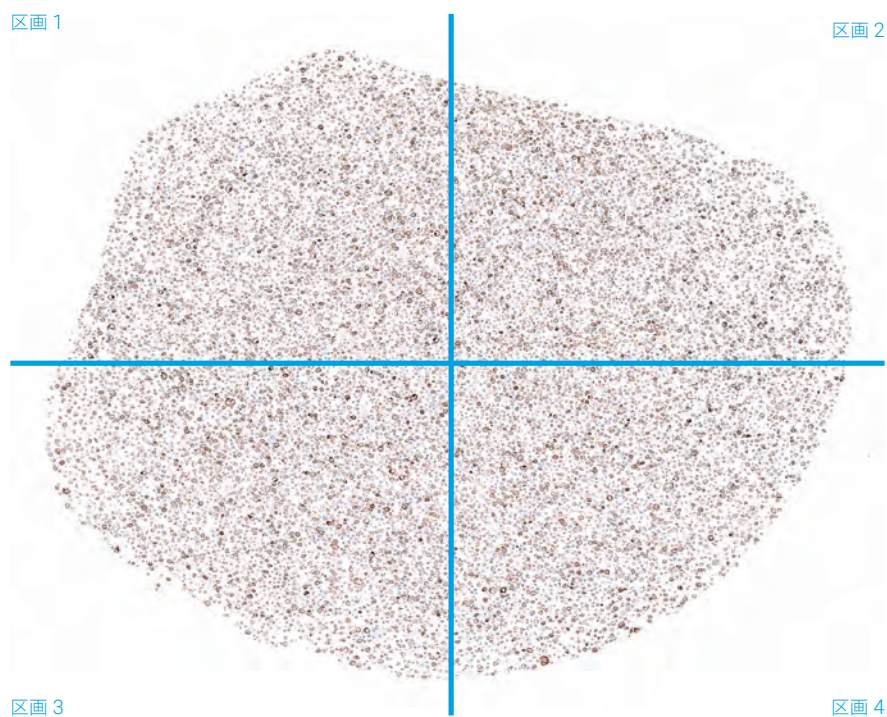
ボーダーライン合格の PD-L1 陽性コントロール細胞



図 77: NCI-H226 細胞（対物レンズ 2 倍）。

ボーダーライン合格の PD-L1 陽性コントロール細胞の評価方法

ボーダーラインの PD-L1 陽性コントロール細胞では、スライド上のセルブロック切片を 4 区画に分け、20 倍の倍率で検証して、陽性細胞の全体に占める割合と、全染色細胞の平均染色強度を決定します。



区画 1

区画 1 では、細胞の約 70 % が細胞膜染色を示しており、この区画での全染色細胞の平均染色強度は 2+ 以上です。

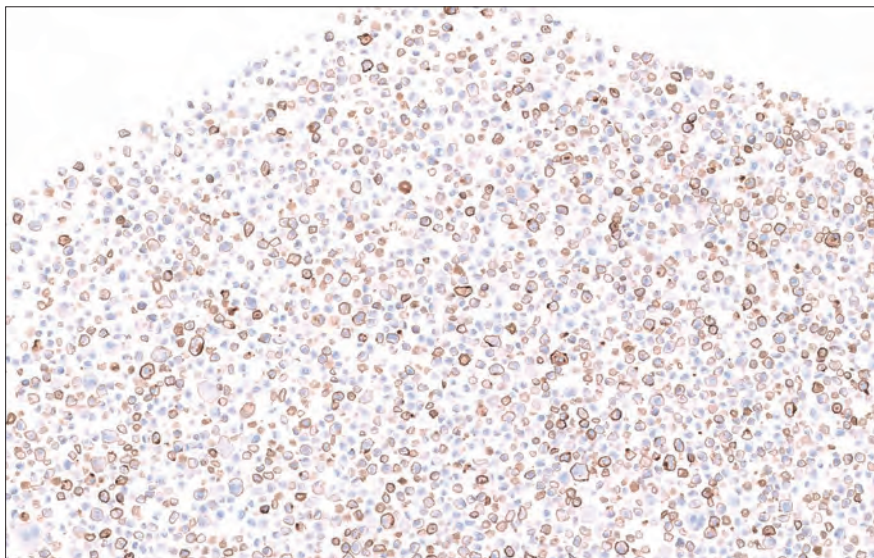


図 78: NCI-H226 細胞 (対物レンズ 5 倍)。

区画 2

区画 2 では、細胞の約 75 % が細胞膜染色を示しており、この区画での全染色細胞の平均染色強度は 2+ 以上です。

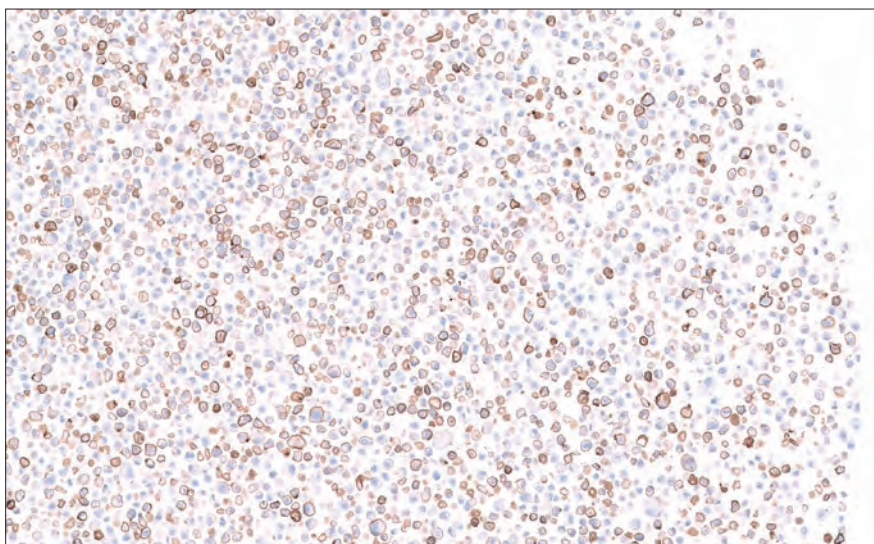


図 79: NCI-H226 細胞 (対物レンズ 5 倍)。

区画 3

区画 3 では、細胞の約 70 % が細胞膜染色を示しており、この区画での全染色細胞の平均染色強度は 2+ 以上です。

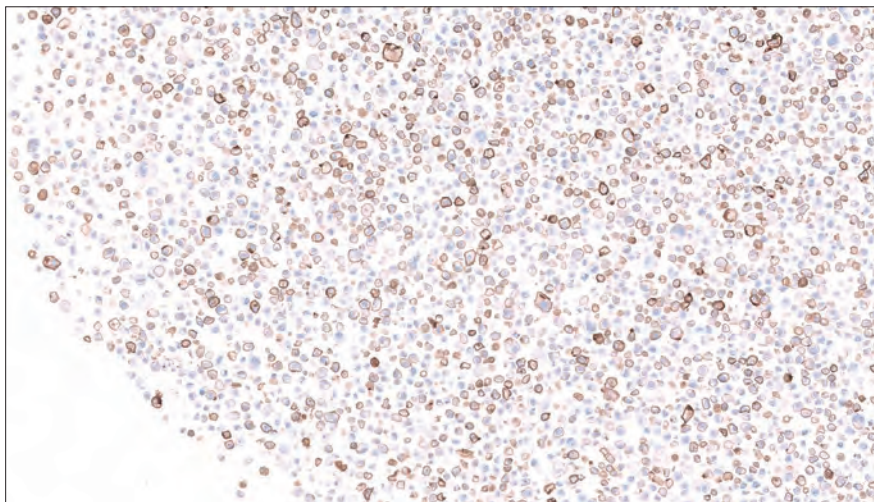


図 80: NCI-H226 細胞（対物レンズ 5 倍）。

区画 4

区画 4 では、細胞の約 65 % が細胞膜染色を示しており、この区画での全染色細胞の平均染色強度は 2+ 以上です。

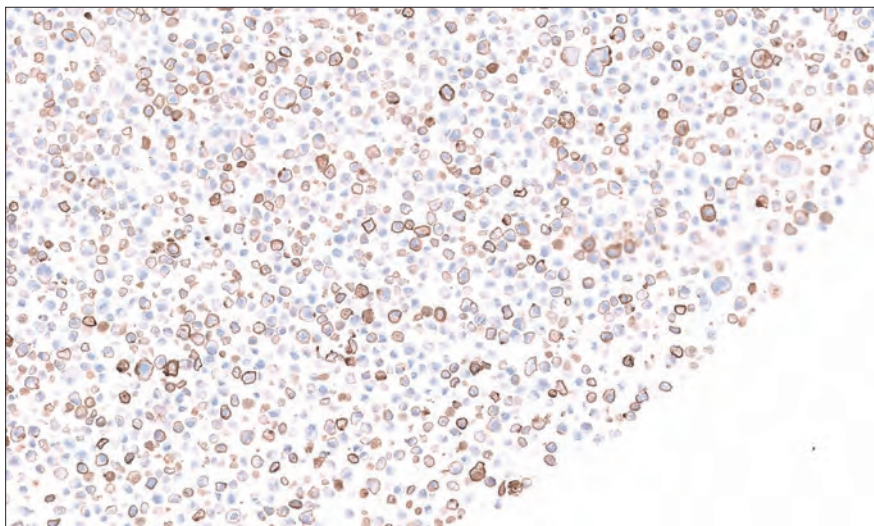
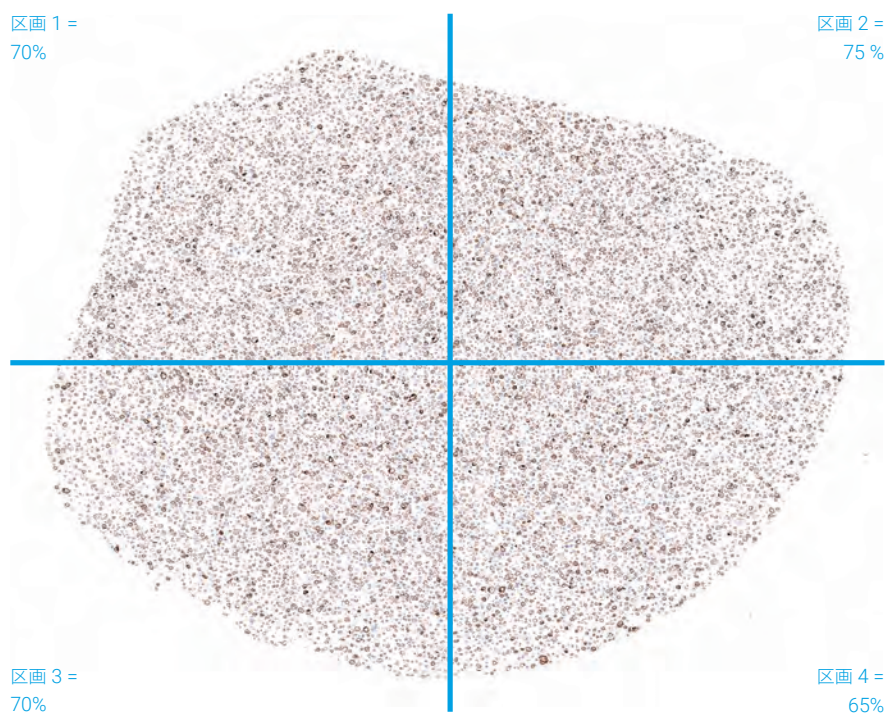


図 81: NCI-H226 細胞（対物レンズ 5 倍）。

算出

1. 全 4 区画中から細胞膜染色を示す細胞の平均比率を算出し、PD-L1 陽性コントロールセルブロック切片中の細胞膜染色を示す細胞の全体に占める割合を推定
2. 細胞膜染色を示す全細胞の平均染色強度が 2+ 以上であるかどうかを確認



$$\frac{70 + 75 + 70 + 65}{4} = 70$$

- 細胞膜染色を示す細胞の全体に占める割合 = 70 %
- 細胞膜染色を示す全細胞の平均染色強度 $\geq 2+$

NCI-H226 陽性コントロール細胞は許容基準を満たします。

不合格コントロールスライド

例 1: 合格した PD-L1 陰性コントロール細胞と不合格の PD-L1 陽性コントロール細胞

合格 PD-L1 陰性コントロール細胞

- 細胞膜染色を呈する細胞を認めない*
- 非特異的染色強度が 1+ 未満である*

* いくつかの MCF-7 細胞がまれに染色される場合があることに注意してください。次の許容基準が適用されます。明らかな細胞膜染色を呈する細胞が 10 個以下、かつ/または MCF-7 細胞ペレット内にみられる 1+ 以上の非特異的染色は許容されます

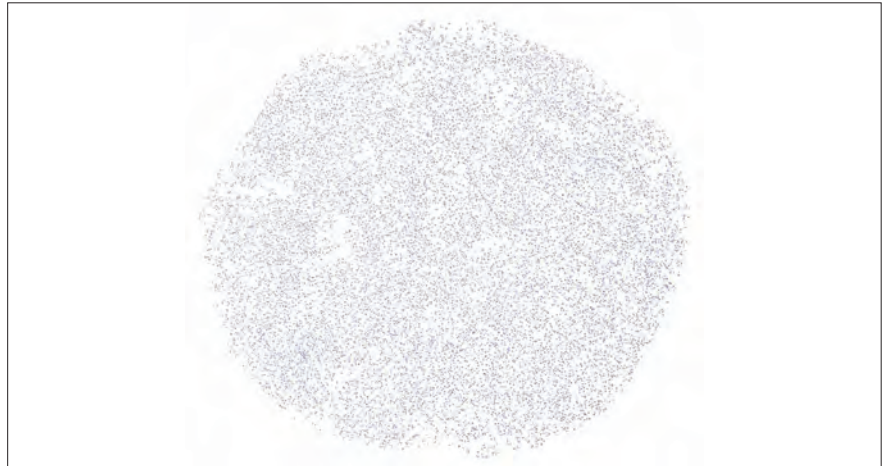


図 82: MCF-7 細胞（対物レンズ 2 倍）。

不合格 PD-L1 陽性コントロール細胞

- 細胞膜染色を示す細胞の割合が 70 % 未満であり、細胞膜染色を示す全細胞の平均染色強度が 2+ 未満



図 83: NCI-H226 細胞（対物レンズ 2 倍）。

不合格の詳細を示した高倍率画像について、以下の画像を参照してください。

不合格 PD-L1 陽性コントロール細胞（10 倍）

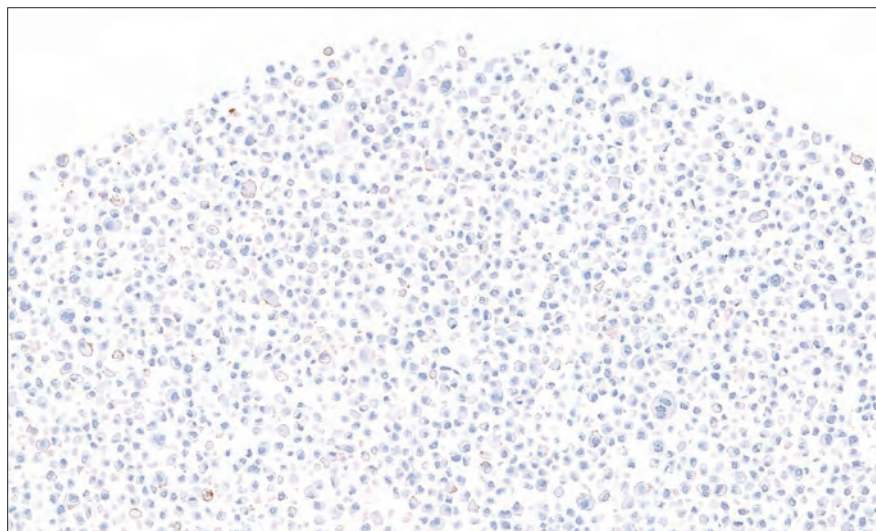


図 84: NCI-H226 細胞（対物レンズ 10 倍）。

不合格 PD-L1 陽性コントロール細胞（20 倍）

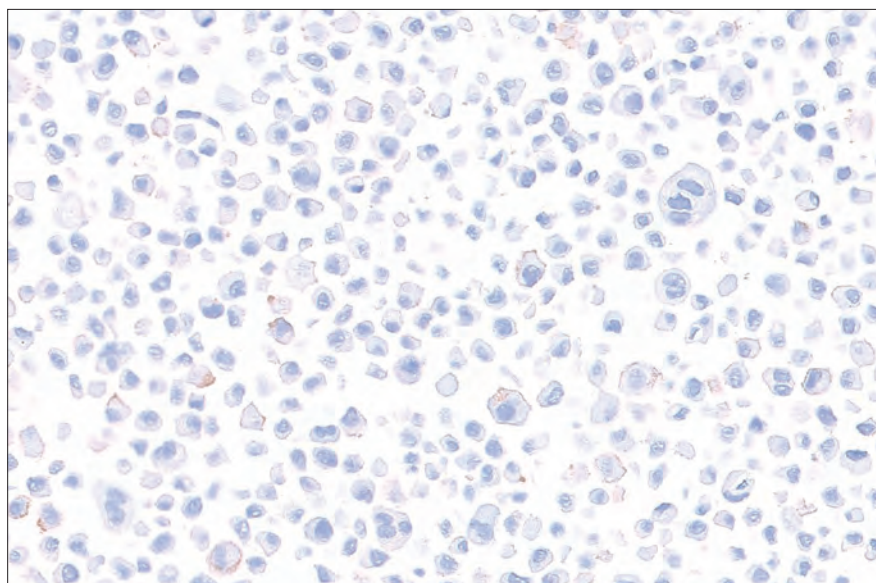


図 85: NCI-H226 細胞（対物レンズ 20 倍）。

例 2: 合格した PD-L1 陰性コントロール細胞と不合格の PD-L1 陽性コントロール細胞

合格 PD-L1 陰性コントロール細胞

- 細胞膜染色を呈する細胞を認めない*
- 非特異的染色強度が 1+未満である*

* いくつかの MCF-7 細胞がまれに染色される場合があることに注意してください。次の許容基準が適用されます。明らかな細胞膜染色を呈する細胞が 10 個以下、かつ/または MCF-7 細胞ペレット内にみられる 1+ 以上の非特異的染色は許容されます

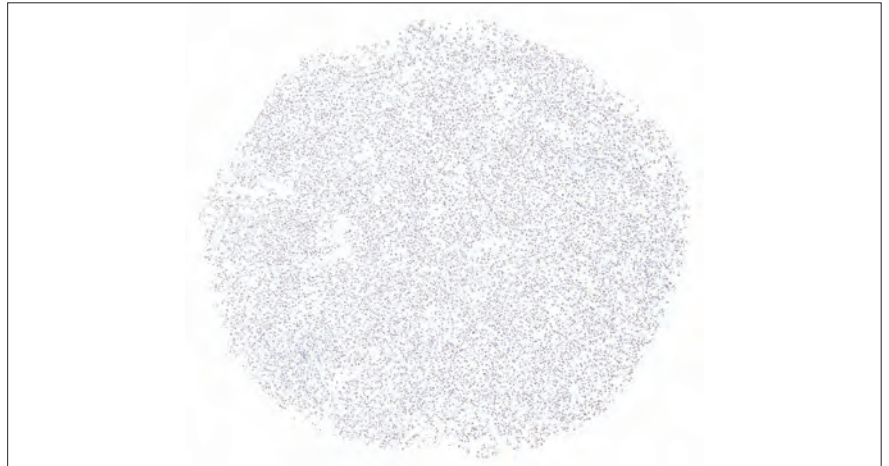


図 86: MCF-7 細胞（対物レンズ 2 倍）。

不合格 PD-L1 陽性コントロール細胞

- 細胞膜染色を示す細胞の割合が 70 % 未満であり、細胞膜染色を示す全細胞の平均染色強度が 2+ 未満



図 87: NCI-H226 細胞（対物レンズ 2 倍）。

不合格の詳細を示した高倍率画像について、以下の画像を参照してください。

不合格 PD-L1 陽性コントロール細胞（10 倍）

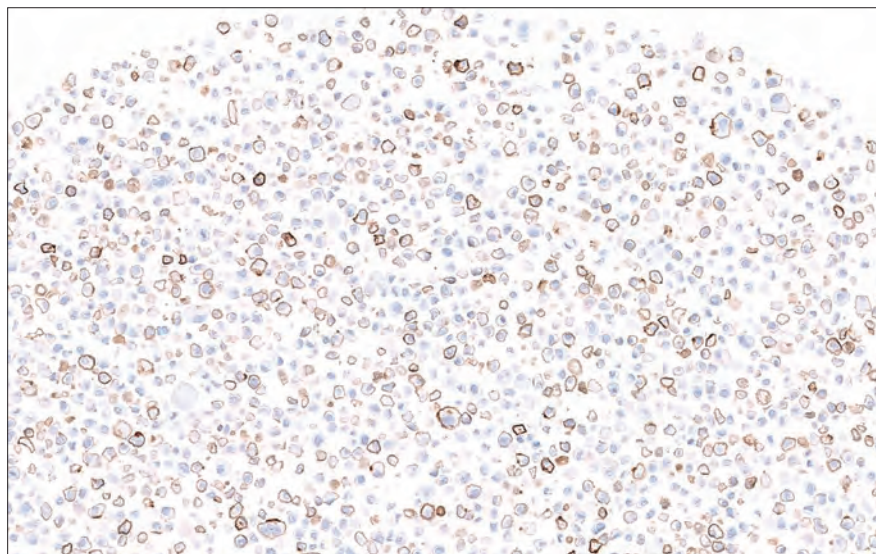


図 88: NCI-H226 細胞（対物レンズ 10 倍）。

不合格 PD-L1 陽性コントロール細胞（20 倍）

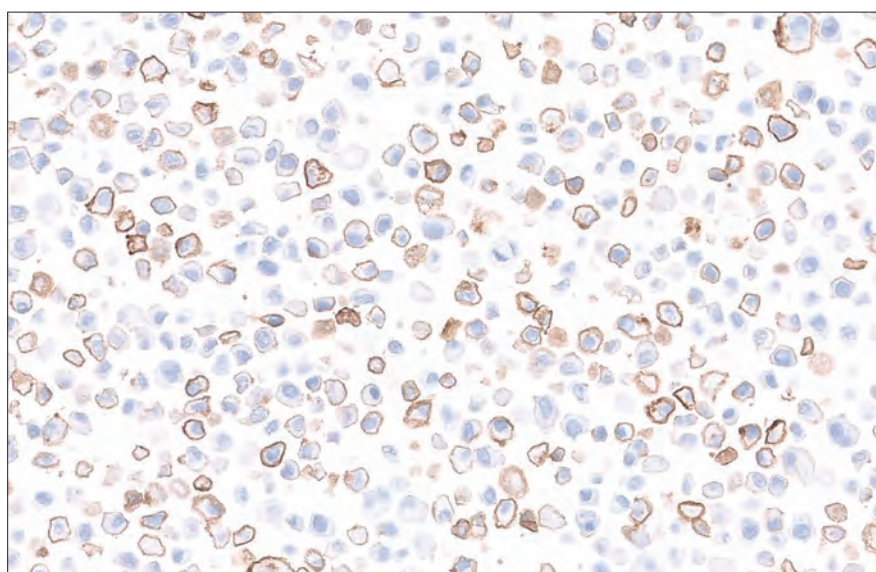


図 89: NCI-H226 細胞（対物レンズ 20 倍）。

例 3: 合格した PD-L1 陽性コントロール細胞と不合格の PD-L1 陰性コントロール細胞

合格 PD-L1 陽性コントロール細胞

- 70 % 以上の細胞が細胞膜染色を呈する
- 細胞膜染色を示す細胞の平均染色強度が 2+ 以上
- 非特異的染色の染色強度が 1+ 未満

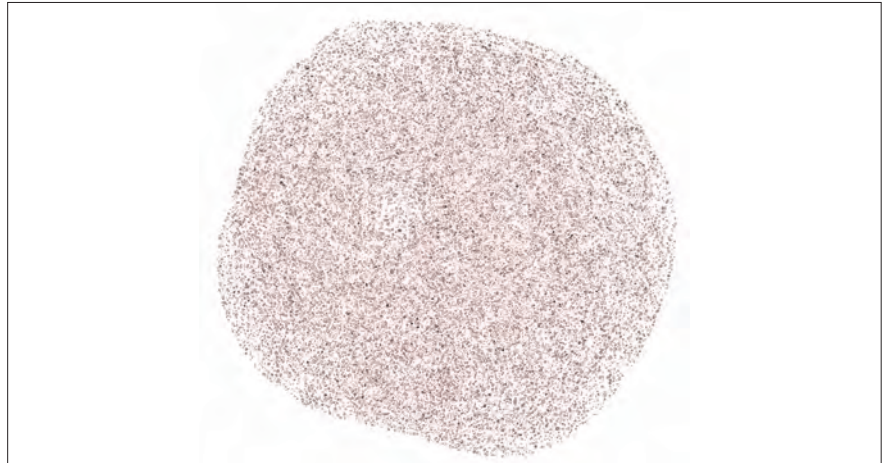


図 90: NCI-H226 細胞（対物レンズ 2 倍）。

不合格 PD-L1 陰性コントロールスライド

- 非特異的（核）染色の染色強度が 1+ 以上
- 明らかな細胞膜染色を呈する細胞、または染色強度 1 以上の非特異的染色を呈する細胞が合計 10 個を超えている



図 91: MCF-7 細胞（対物レンズ 2 倍）。

不合格の詳細を示した高倍率画像について、以下の画像を参照してください。

不合格 PD-L1 陰性コントロール細胞（10 倍）

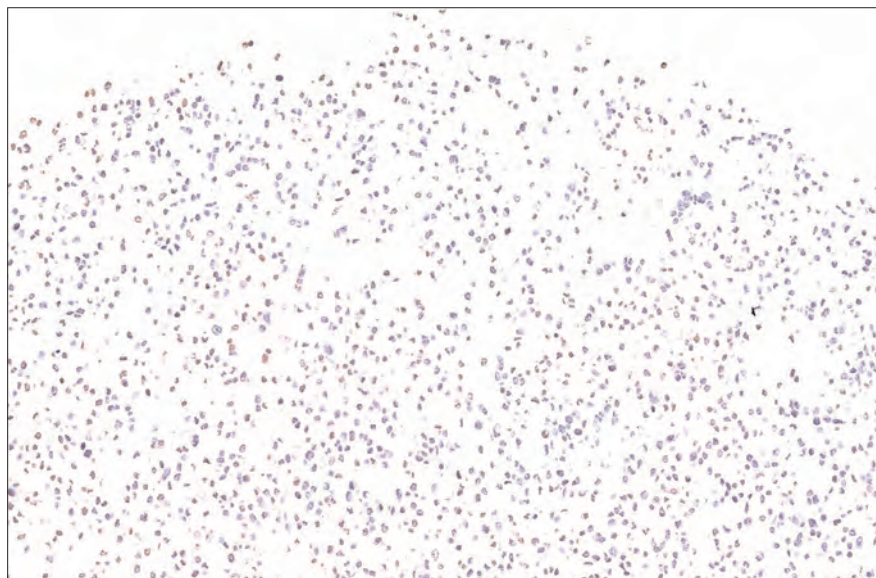


図 92: MCF-7 細胞（対物レンズ 10 倍）。

不合格 PD-L1 陰性コントロール細胞（20 倍）

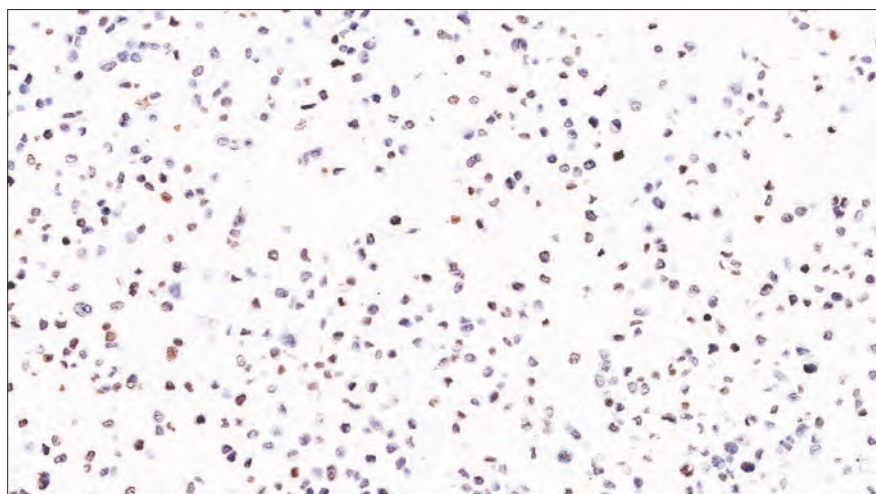


図 93: MCF-7 細胞（対物レンズ 20 倍）。

参考文献

1. PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」添付文書アジレント・テクノロジー株式会社
2. 社内資料 Agilent Technologies, Inc.

注意事項

This image shows a single sheet of white paper with horizontal ruling lines. The lines are evenly spaced and run across the width of the page. There are no margins, text, or other markings on the paper.

[illegible]

注意事項

This image shows a single sheet of white paper with horizontal ruling lines. The lines are evenly spaced and run across the width of the page. There are no margins, text, or other markings on the paper.

キイトルーダ® (ペムブロリズマブ) の
適切な投与を行うための補助に
用いられる先進的アッセイ
PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」



アジレント・テクノロジー株式会社

芝浦オフィス / 〒108-0023 東京都港区芝浦四丁目16番36号 住友芝浦ビル

●カスタマーサポート：03-5232-9968 フリーダイヤル：0800-800-8910

mail：email_japan@agilent.com

※仕様は予告なく変更する場合があります。

<https://www.agilent.com/>

P250560

© Agilent Technologies, Inc. 2025

本書の一部または全部を書面による事前の許可なしに複製、改変、翻訳することは、著作権法で認められている場合を除き、法律で禁止されています。

Published in Japan, May 2025

29621JA 2025 MAY