

2025年2月



## PRODUCT INFORMATION

# HISTOFINE 免疫組織化学染色試薬

体外診断用医薬品

製造販売承認番号：30200EZX00015000

パラフィン包埋切片用

組織検査用腫瘍マーカーキット

ヒストファイン シンプルステイン MAX-PO(MULTI) ALK

NICHIREI BIOSCIENCES INC.

## 組織検査用腫瘍マーカーキット

## ヒストファイン シンプルステイン MAX-PO(MULTI) ALK

製造販売承認番号：30200EZX00015000

## ○ 製品情報(構成試薬 第一抗体)

医薬品：体外診断用医薬品

品名	製品形態	コード	包装	価格(円)
医薬品 ヒストファイン シンプルステイン MAX-PO(MULTI) ALK 第一抗体 抗ALKモノクローナル抗体(AL1-2963)	用手法用	428321	20テスト (2mL×1本)	270,000

\*AL1-2963

ホルマリン固定パラフィン包埋標本でのALK免疫組織染色が可能な新たな抗ALKモノクローナル抗体です。

## ○ 構成

## ○ 形状・構造等(キットの構成)

本キットの構成試薬・付属品は、以下の製品を組み合わせてご利用ください。

構成試薬	成 分	製 品
第一抗体	抗ALKモノクローナル抗体(クローン：AL1-2963) (動物種：マウス)	「ヒストファイン 抗ALKモノクローナル抗体 (AL1-2963)」をご使用ください。 コード：428321 20テスト ￥270,000
陰性コントロール	マウスイムノグロブリン	自家調製してください。
酵素標識第二抗体	ペルオキシダーゼ標識抗マウスIgG ポリクローナル抗体(Fab')(動物種：ヤギ) ペルオキシダーゼ標識抗ウサギIgG ポリクローナル抗体(Fab')(動物種：ヤギ)	「ヒストファイン シンプルステインMAX-PO(MULTI) ユニバーサル試薬」をご使用ください。 コード：424151 170テスト ￥48,000 コード：424152 500テスト ￥65,000 コード：424154 1500テスト ￥130,000
発色基質(試薬A)	3,3'-ジアミノベンジジン・4HCl	「ヒストファイン DAB基質キット」をご使用ください。 コード：425011 500テスト ￥28,000
基質緩衝液(試薬B)		
発色試薬(試薬C)	過酸化水素水	
付 属 品		
抗原賦活液		「ヒストファイン 抗原賦活液 pH9」をご使用ください。 コード：415211 50mL×10本(10倍濃縮) ￥45,000
ブロッキング試薬		30%過酸化水素水をメタノールで10倍希釈し、 自家調製してください。
PBS		「ヒストファイン PBS」をご使用ください。 コード：415223 191g(20L用) ￥35,000

## ○ 貯蔵方法・有効期間

○ 貯蔵方法：2-8°Cで保存

○ 有効期間：18ヶ月

## ○ 注意

本キットは悪性リンパ腫におけるALKタンパクを測定するよう検出感度が最適化されているため、  
非小細胞肺癌におけるALK陽性肺癌の診断およびALK阻害剤の適応判定に用いないでください。

## ○ 臨床性能試験

検体189例について、本キットと他社品(研究用試薬)との染色性を比較したところ、良好な相関性が得られました。

他社品(研究用試薬)

	陽性	陰性	合計	
本キット	陽性	29	0	29
	陰性	0	160	160
	合計	29	160	189

陽性一致率: 100% ( 29検体 / 29検体)

陰性一致率: 100% (160検体/160検体)

全体一致率: 100% (189検体/189検体)

検体189例について、WHO分類第4版に基づき事前に検体採取施設でなされた診断を基準として、本キットの陽性一致率、陰性一致率を算出したところ、良好な一致率を示しました。

WHO分類第4版に基づくリンパ腫分類	検体数	陽性一致率
Anaplastic large cell lymphoma, ALK positive	29	96.6% (28例/29例) ※
ALK positive large B-cell lymphoma	0	— (0例/0例)
合計	29	96.6% (28例/29例)

※不一致の1例は、ALK FISH解析を行いましたが判定不能でした。

WHO分類第4版に基づくリンパ腫分類	検体数	陰性一致率
Chronic lymphocytic leukaemia /small lymphocytic lymphoma	2	100% (2例/2例)
Plasma cell neoplasms	1	100% (1例/1例)
Extranodal marginal zone lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT lymphoma)	26	100% (26例/26例)
Nodal marginal zone lymphoma	1	100% (1例/1例)
Follicular lymphoma	27	100% (27例/27例)
Mantle cell lymphoma	7	100% (7例/7例)
Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL), NOS	59	100% (59例/59例)
EBV positive DLBCL of the elderly	1	100% (1例/1例)
Plasmablastic lymphoma	1	100% (1例/1例)
Burkitt lymphoma	2	100% (2例/2例)
Adult T-cell leukaemia/lymphoma	2	100% (2例/2例)
Extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type	1	100% (1例/1例)
Enteropathy-associated T-cell lymphoma	1	100% (1例/1例)
Peripheral T-cell lymphoma, NOS	1	100% (1例/1例)
Angioimmunoblastic T-cell lymphoma	4	100% (4例/4例)
Anaplastic large cell lymphoma, ALK negative	11	90.9% (10例/11例) ※
Nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma	1	100% (1例/1例)
Classical Hodgkin lymphoma	5	100% (5例/5例)
Other iatrogenic immunodeficiency-associated lymphoproliferative disorders	4	100% (4例/4例)
Others		
Atypical lymphoid infiltration/Low grade lymphoma susp	1	100% (1例/1例)
Castleman disease	1	100% (1例/1例)
Lymphoid hyperplasia	1	100% (1例/1例)
合計	160	99.4% (159例/160例)

※不一致の1例は、ALK FISH解析によって ALK 遺伝子の転座が確認されました。

## ○ ALK遺伝子と悪性リンパ腫

ALK(Anaplastic Lymphoma Kinase)遺伝子は染色体2p23に位置し、その遺伝子産物は1,620アミノ酸残基、約176kDaの膜貫通型タンパクです。ALKタンパクはインスリン受容体ファミリーに属する受容体型チロシンキナーゼであり、リガンドが結合することにより二量体を形成し細胞質内にあるキナーゼドメインが活性化することで、その機能を果たすとされています<sup>(1)(2)</sup>。

ALKタンパクの発現は、正常組織では脳の神経細胞などに限られるため<sup>(3)(4)</sup>、ALK免疫組織染色はALK遺伝子の再構成に起因する腫瘍に高い特異性を示します。 固形腫瘍では、肉腫の1つである炎症性筋線維芽細胞性腫瘍(IMT)の約半数がALK陽性となることが知られています<sup>(5)</sup>。また、非小細胞肺癌の一部(2-5%程度)がALK融合遺伝子を有していると報告されており<sup>(6)</sup>、ALK阻害剤の適応判定のために、高感度化されたALK免疫組織染色が利用されています。 悪性リンパ腫では、成熟T細胞腫瘍であるALK陽性未分化大細胞型リンパ腫(anaplastic large cell lymphoma, ALK-positive: ALK陽性ALCL)と成熟B細胞腫瘍であるALK陽性大細胞型B細胞リンパ腫(ALK-positive large B-cell lymphoma: ALK陽性LBCL)の2つの病型がALK陽性となることが知られており、この2つの病型以外はALK陰性となることから、悪性リンパ腫の鑑別診断にあたってALK免疫組織染色は極めて有用な手法です。

未分化大細胞型リンパ腫(anaplastic large cell lymphoma, ALCL)は、形態的にHodgkin細胞に類似したCD30(Ki-1抗原)陽性の大型リンパ球の増殖を特徴とする腫瘍Ki-1-positive anaplastic large cell lymphoma (Ki-1リンパ腫)として、1985年Steinらにより最初に提唱されました。その後1994年に、染色体転座t(2;5)(p23;q35)を有するALCLにおいて、ALK融合タンパク(p80<sup>NPM-ALK</sup>)がはじめて報告されました。WHO分類第3版(2001年)では、ALCLをT細胞性あるいはnull細胞性のものに限定し、WHO分類第4版(2008年)では、ALCLをALK陽性ALCL(ALCL, ALK-positive)、ALK陰性ALCL(ALCL, ALK-negative)、原発性皮膚ALCL(primary cutaneous ALCL)に分類し、改訂第4版(2017年)からは、新しく乳房インプラント関連ALCL(breast implant-associated ALCL)が追加されました<sup>(7)(8)</sup>。

ALK陽性ALCLとALK陰性ALCLは形態学的には区別ができず、ALKタンパクの発現の有無によって分けられる病型です<sup>(9)</sup>。ALK陽性ALCLは、染色体の再構成によるALK融合遺伝子の形成を特徴とする腫瘍で、遺伝子産物であるALK融合タンパクは二量体化し恒常的にチロシンキナーゼが活性化しているため、細胞増殖シグナルなどが亢進し、細胞ががん化すると考えられています<sup>(2)(10)(11)</sup>。t(2;5)(p23;q35)による融合遺伝子NPM1-ALKの形成がよく知られていますが、その他にも多くの転座様式が存在しており、転座相手によってALK免疫組織染色の染色パターンが異なることが知られています<sup>(7)</sup>。一方、ALK陰性ALCLが有する遺伝子異常としては、DUSP22再構成、TP63再構成などが知られていますが、DUSP22再構成を有する症例はALK陽性ALCLと同様に予後良好であるのに対して、TP63再構成を有する症例は予後不良であることが報告されています<sup>(12)</sup>。

ALCL, ALK-positiveにおけるALK転座と融合遺伝子

染色体異常	融合遺伝子	ALK染色パターン	頻度	同じ融合遺伝子を示す疾患
t(2;5) (p23;q35)	<i>NPM1-ALK</i>	Nuclear and diffuse cytoplasmic	84%	DLBCL
t(1;2) (q25;p23)	<i>TPM3-ALK</i>	Diffuse cytoplasmic with peripheral intensification	13%	IMT, ALK + histiocytosis
inv(2) (p23q35)	<i>ATIC-ALK</i>	Diffuse cytoplasmic	1%	IMT
t(2;3) (p23;q21)	<i>TFG-ALK</i>	Diffuse cytoplasmic	< 1%	
t(2;17) (p23;q23)	<i>CTLC-ALK</i>	Granular cytoplasmic	< 1%	DLBCL, IMT
t(2;X) (p23;q11-12)	<i>MSN-ALK</i>	Membrane staining	< 1%	
t(2;19) (p23;q13.1)	<i>TPM4-ALK</i>	Diffuse cytoplasmic	< 1%	SCC, IMT
t(2;22) (p23;q11.2)	<i>MYH9-ALK</i>	Diffuse cytoplasmic	< 1%	
t(2;17) (p23;q25)	<i>RNF213-ALK</i>	Diffuse cytoplasmic	< 1%	

DLBCL: diffuse large B-cell lymphoma, IMT: inflammatory myofibroblastic tumor, ALK+: ALK- positive, SCC: squamous cell carcinoma  
of esophagus  
出典(7)より表1を引用改編

## ○悪性リンパ腫の治療とALK免疫組織染色

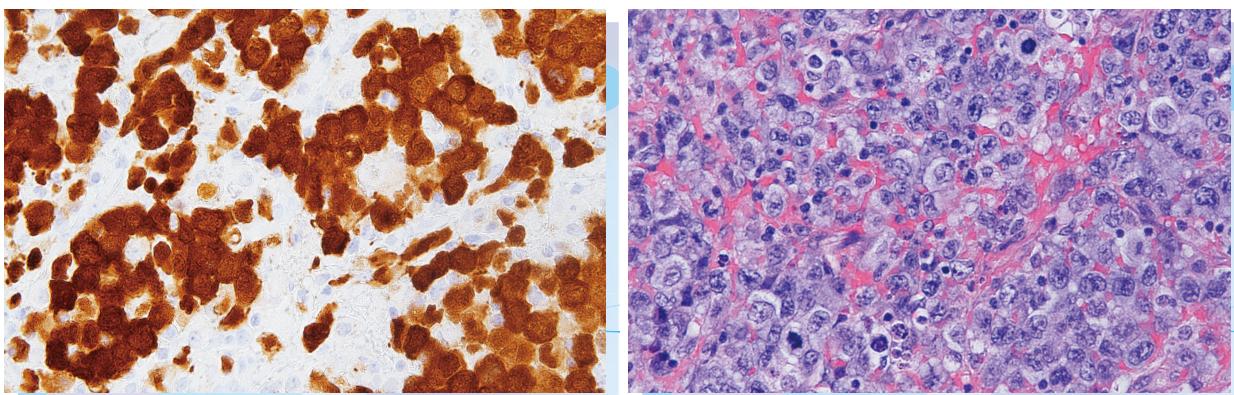
末梢性T細胞リンパ腫(peripheral T-cell lymphoma: PTCL)の中でも、ALK陽性ALCLは予後良好な病型であり、初発のALK陽性ALCLにはCHOP療法が有効とされています。一方、同じPTCLでも、ALK陰性ALCLや末梢性T細胞リンパ腫、非特定型(PTCL, NOS)は標準治療レジメンが確立しておらず、臨床試験への参加なども推奨されています<sup>(13)</sup>。そのため、ALKタンパクの発現の有無を免疫組織染色で確認し、これらの病型を鑑別することは治療方針の決定において重要です。

また、古典的ホジキンリンパ腫、特に結節硬化型古典的ホジキンリンパ腫(nodular sclerosis classical Hodgkin lymphoma: NSCLH)とALCLは形態的に類似していることがあり、それらの鑑別にはALKの免疫組織染色が有用です<sup>(14)</sup>。ABVD療法を標準治療とするホジキンリンパ腫<sup>(15)</sup>とALCLを鑑別することは、適切な治療を行ううえでやはり重要です。

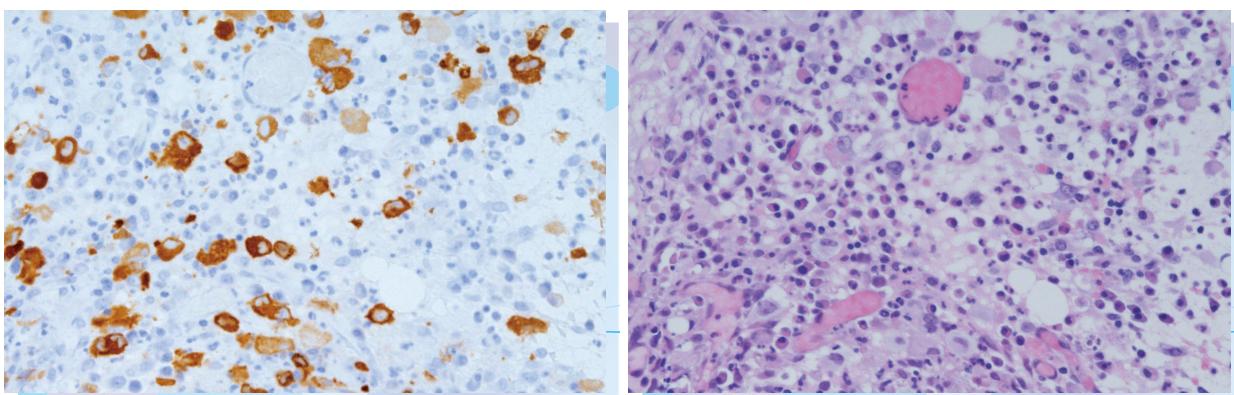
初発のALK陽性ALCLにはCHOP療法が有効とされますが、大規模後ろ向き研究であるThe International Peripheral T-cell Lymphoma Projectにて、化学療法を受けたALK陽性ALCL患者の5年治療成功生存割合(5-year FFS)が60%と報告されているように<sup>(16)</sup>、一部の症例は再発・難治例であり、新しい治療の開発が期待されていました。このような背景のもと、再発または難治性のALK陽性ALCLに対してアレセンサ(一般名:アレクチニブ塩酸塩)の有効性と安全性を評価する医師主導治験(ALC-ALCL試験)が実施され<sup>(17)</sup>、当該試験結果に基づき、2020年2月、アレセンサが再発又は難治性のALK融合遺伝子陽性の未分化大細胞リンパ腫に適応拡大となりました<sup>(18)</sup>。ALKを標的とする分子標的治療が行われるようになり、悪性リンパ腫の診断におけるALK免疫組織染色の役割はますます重要なものとなっています。

### ●ALK陽性未分化大細胞型リンパ腫におけるALK染色パターンの例

#### ■核と細胞質に陽性

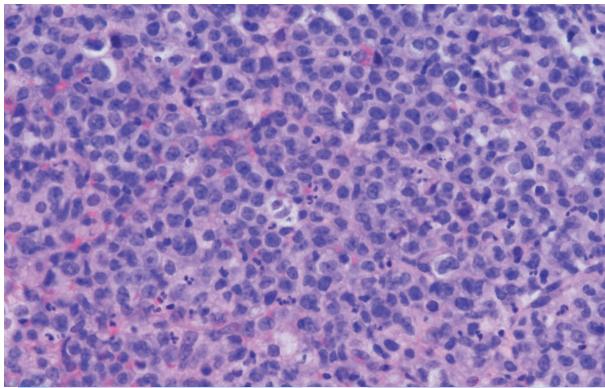
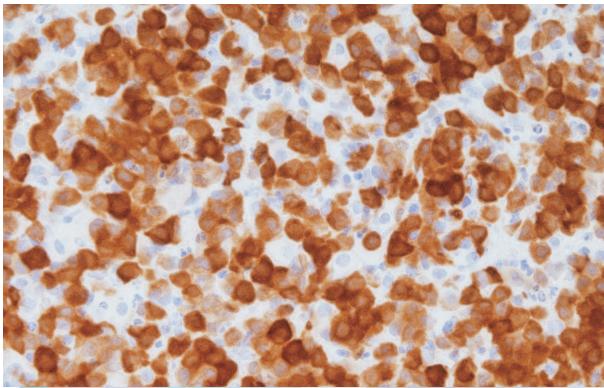


#### ■細胞質に陽性

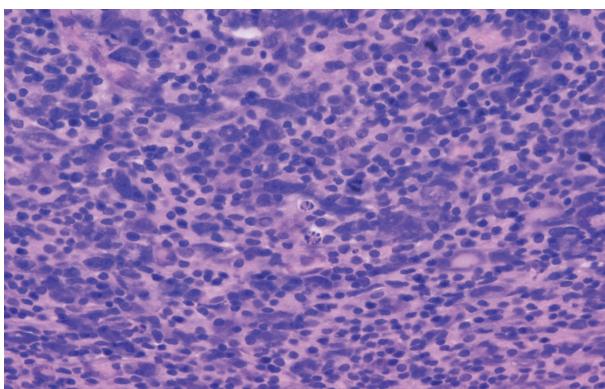
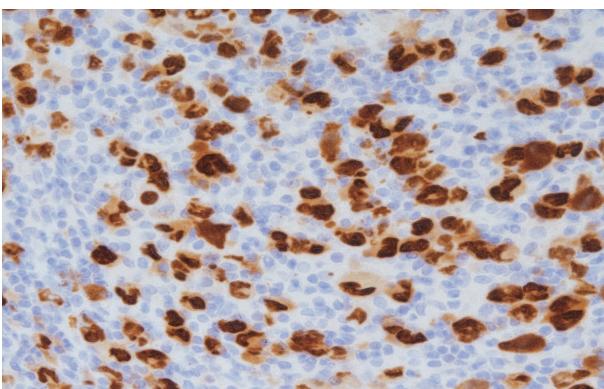


## ○染色例

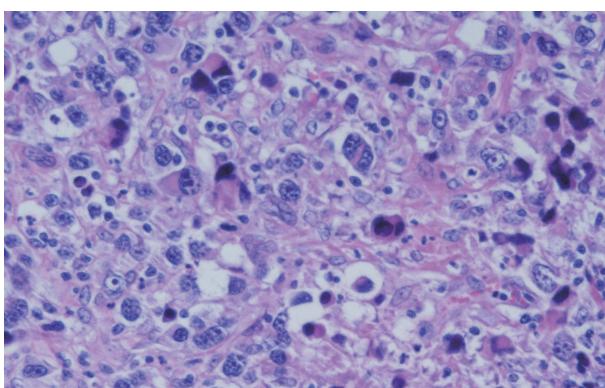
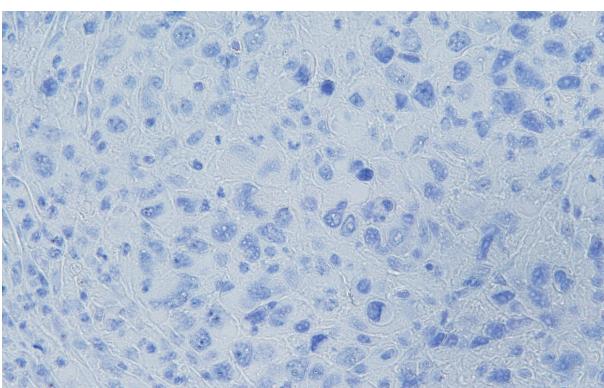
■ [陽性] ALK陽性未分化大細胞型リンパ腫



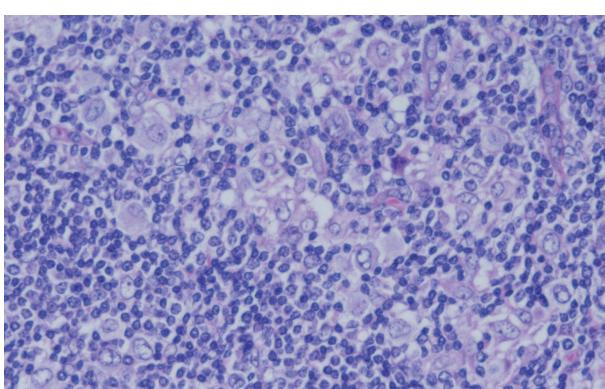
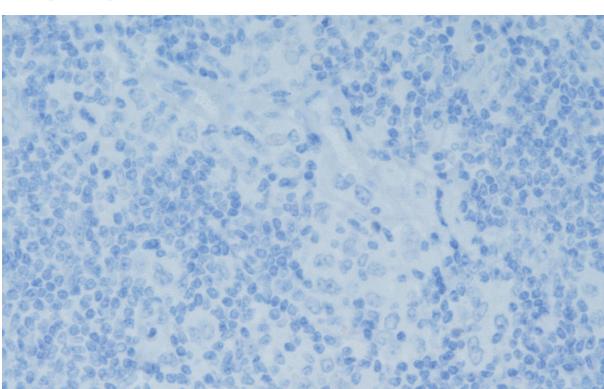
■ [陽性] ALK陽性未分化大細胞型リンパ腫



■ [陰性] ALK陰性未分化大細胞型リンパ腫



■ [陰性] 古典的ホジキンリンパ腫



## ○ 使用目的と臨床的有用性

組織、細胞中の ALK タンパクの検出(悪性リンパ腫の診断補助)  
悪性リンパ腫の病型分類に有用です。

## ○ 測定結果の判定法 添付文書より一部抜粋・改編

### ● 判定方法

光学顕微鏡によって陽性反応を観察します。  
検体組織中の腫瘍細胞の細胞質、核、もしくは細胞膜に染色が認められるとき、これを陽性所見とします。

### ● 判定基準

- (1) 陽性  
検体組織中に、明らかな特異染色像(茶褐色)を呈している腫瘍細胞があるときは陽性です。
- (2) 陰性  
検体組織中に、明らかな特異染色像(茶褐色)を呈している腫瘍細胞がないときは陰性です。

### ● 判定上の留意事項

神経系に分化した細胞を含む組織の一部に第一抗体による染色性が認められることがあります。  
それらの組織を検体として使用する場合にはご注意ください。

## ○ 自動染色装置

自動染色装置を用いて染色を行う場合、ヒストステイナー 36A(届出番号 13B3X10013036000)または  
ヒストステイナー 48A(届出番号 13B3X10013048000)を用いてください。  
ヒストファイン シンプルスティーン MAX-PO(MULTI) ALK (ヒストステイナー用)につきましては、  
弊社までご連絡ください。



## ○出典

- (1) Webb TR, et al. Anaplastic lymphoma kinase: role in cancer pathogenesis and small-molecule inhibitor development for therapy. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2009 Mar;9(3):331-56.
- (2) Della Corte CM, et al. Role and targeting of anaplastic lymphoma kinase in cancer. *Mol Cancer.* 2018 Feb 19;17(1):30.
- (3) Pulford K, et al. Detection of anaplastic lymphoma kinase (ALK) and nucleolar protein nucleophosmin (NPM)-ALK proteins in normal and neoplastic cells with the monoclonal antibody ALK1. *Blood.* 1997 Feb 15;89(4):1394-404.
- (4) Falini B, et al. ALK expression defines a distinct group of T/null lymphomas ("ALK lymphomas") with a wide morphological spectrum. *Am J Pathol.* 1998 Sep;153(3):875-86.
- (5) Mossé YP. Anaplastic Lymphoma Kinase as a Cancer Target in Pediatric Malignancies. *Clin Cancer Res.* 2016 Feb 1;22(3):546-52.
- (6) 日本肺癌学会バイオマーカー委員会. 肺癌患者におけるALK融合遺伝子検査の手引き 第3.1版. 2019. [https://www.haigan.gr.jp/modules/guideline/index.php?content\\_id=6](https://www.haigan.gr.jp/modules/guideline/index.php?content_id=6) (2020年8月確認)
- (7) 中澤 温子. 未分化大細胞型リンパ腫・ALK陽性型. リンパ腫アトラス 第5版. 中村 栄男 他編. 文光堂. 東京. 2018; 258-261.
- (8) Swerdlow SH, et al. eds. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Revised 4th Edition. International Agency for Research on Cancer. Lyon. 2017.
- (9) Falini B, et al. Anaplastic large cell lymphoma: changes in the World Health Organization classification and perspectives for targeted therapy. *Haematologica.* 2009 Jul;94(7):897-900.
- (10) Zeng Y, et al. Genetics of anaplastic large cell lymphoma. *Leuk Lymphoma.* 2016;57(1):21-7.
- (11) Amin HM, et al. Pathobiology of ALK+ anaplastic large-cell lymphoma. *Blood.* 2007 Oct 1;110 (7):2259-67.
- (12) Parrilla Castellar ER, et al. ALK-negative anaplastic large cell lymphoma is a genetically heterogeneous disease with widely disparate clinical outcomes. *Blood.* 2014 Aug 28;124(9):1473-80.
- (13) 一般社団法人 日本血液学会. 造血器腫瘍診療ガイドライン2018年版. 第II章 リンパ腫, 末梢性T細胞リンパ腫(peripheral T-cell lymphoma : PTCL). [http://www.jshem.or.jp/gui-hemali/2\\_7.html#soron](http://www.jshem.or.jp/gui-hemali/2_7.html#soron) (2020年8月確認)
- (14) Tsuyama N, et al. Anaplastic large cell lymphoma: pathology, genetics, and clinical aspects. *J Clin Exp Hematop.* 2017;57(3):120-142.
- (15) 一般社団法人 日本血液学会. 造血器腫瘍診療ガイドライン2018年版. 第II章 リンパ腫, ホジキンリンパ腫(Hodgkin lymphoma : HL). [http://www.jshem.or.jp/gui-hemali/2\\_10.html#soron](http://www.jshem.or.jp/gui-hemali/2_10.html#soron) (2020年8月確認)
- (16) Savage KJ, et al. ALK- anaplastic large-cell lymphoma is clinically and immunophenotypically different from both ALK+ ALCL and peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified: report from the International Peripheral T-Cell Lymphoma Project. *Blood.* 2008 Jun 15;111(12):5496-504.
- (17) Fukano R, et al. Alectinib for relapsed or refractory anaplastic lymphoma kinase-positive anaplastic large cell lymphoma: An open-label phase II trial. *Cancer Sci.* 2020 Dec;111(12):4540-4547.
- (18) 中外製薬株式会社. ニュースリリース. [アレセンサ、再発又は難治性のALK融合遺伝子陽性の未分化大細胞リンパ腫に対する適応追加の承認を取得, 2020年02月21日] [https://www.chugai-pharm.co.jp/news/detail/20200221160002\\_952.html](https://www.chugai-pharm.co.jp/news/detail/20200221160002_952.html) (2020年8月確認)

製造販売元 株式会社ニチレイバイオサイエンス

本 社 〒104-8402 東京都中央区築地6-19-20

お問い合わせ先 TEL.03(3248)2208 FAX.03(3248)2243

ホームページ <https://nichireibiosciences.co.jp/>