

令和 5 年 6 月 6 日現在

機関番号：13802

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K16955

研究課題名（和文） 精確な個別化医療を目指した高頻度変異消化器がん同定検査の精度解析

研究課題名（英文） Accuracy analysis of high frequency mutation tumor identification testings for precise personalized medicine.

研究代表者

山中 勝正（Yamanaka, Katsumasa）

浜松医科大学・医学部附属病院・臨床検査技師

研究者番号：80838061

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：消化器がんでは、免疫チェックポイント阻害剤を使用するために、マイクロサテライト不安定性（MSI）検査またはDNAミスマッチ修復タンパク（MMRP）の免疫染色（IHC）を用いて判定を実施している。これらの検査は手技も原理も異なるため、判定結果が異なる可能性がある。我々はMSI検査とIHC検査における検査結果の一致率を確認し、結果に影響する因子を同定し、検査精度の向上を図ることを目的とした。両者の結果の一致率は77.8%であった。また、結果の乖離の原因は検体の固定不良であると考えられた。MMRPのIHC検査には、手術検体より固定状態が良好な生検検体の方が適している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

消化器がんでは、免疫チェックポイント阻害剤を使用するために、マイクロサテライト不安定性（MSI）検査またはDNAミスマッチ修復タンパク（MMRP）の免疫染色（IHC）を用いて判定を実施している。我々はこれらの検査の特性を理解し、より精確な検査体制の構築を目指した。MSI検査とIHC検査における検査結果の一致率を確認して、結果に影響する因子を同定し、対応方法を明らかにしたことによって、高頻度変異がん判定検査における精度の向上に寄与したと考えられた。

研究成果の概要（英文）：In gastrointestinal cancers, microsatellite instability (MSI) testing or immunohistochemistry (IHC) for DNA mismatch repair proteins (MMRP) is conducted to determine the use of immune checkpoint inhibitors. Since these tests have different techniques and principles, there is a possibility of result discrepancies. Our aim was to confirm the concordance rate between MSI testing and IHC testing and identify factors that affect the results to improve the accuracy of the tests. The concordance rate between the two results was 77.8%. Furthermore, inadequate sample fixation was the cause of result discrepancies. IHC testing may be more suitable for biopsy samples with better fixation compared to surgical specimens.

研究分野：消化器がん

キーワード：大腸がん マイクロサテライト不安定性 免疫染色 精度管理

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、DNA ミスマッチ修復機構の欠損 (deficient-MMR: dMMR) を認める癌において、免疫チェックポイント阻害薬である抗 PD-1 抗体が有効であると報告され、コンパニオン診断として dMMR 判定検査が普及してきている。dMMR 判定検査は、MMR 機能の低下によりマイクロサテライト反復配列が癌部において正常組織と異なる反復回数であることを検出するマイクロサテライト不安定性 (MSI) 検査 (図 1) MMR 蛋白の発現欠損を同定することで dMMR 否かを判定する MMR タンパクの免疫組織化学染色 (IHC) (図 2) NGS で多数のマイクロサテライト領域の反復配列の違いを判定する方法があり、実臨床では MSI 検査と IHC 検査が広く実施されている。しかしこれら二つの検査は原理および方法が異なるため、両者で同じ検査結果を示すかは明らかではない。

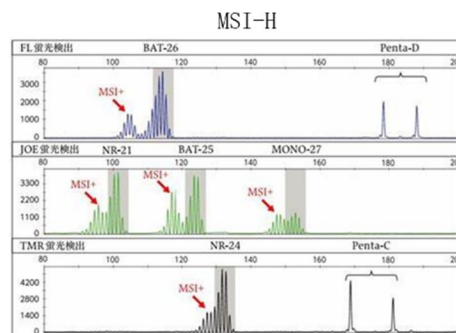
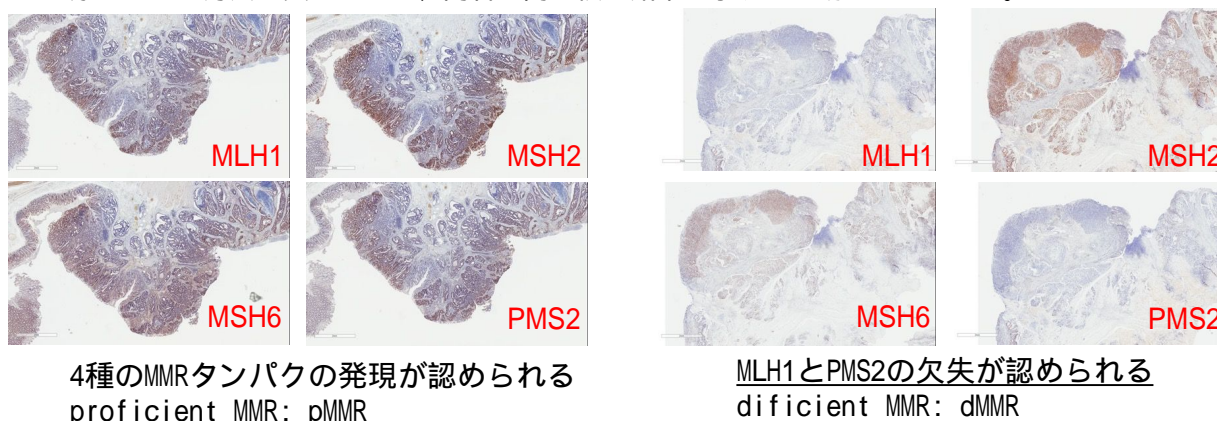


図 1 : MSI検査キット (FALCO) の添付文書より引用)



4種のMMRタンパクの発現が認められる  
proficient MMR: pMMR

MLH1とPMS2の欠失が認められる  
deficient MMR: dMMR

図 2 : MMRP IHC

2. 研究の目的

MSI 検査と IHC 検査における検査結果の一致率を確認し、検査結果に影響する因子を同定することにより、検査精度の向上を図ることを目的とした。

3. 研究の方法

対象は 2019 年 2 月 ~ 2021 年 12 月に当院で MSI 検査を実施した生検検体または手術検体 138 症例を対象とした。MSI 検査を実施した症例のうち、IHC 検査を施行している症例を解析し、検査結果の一致率を検討した。

4. 研究成果

138 症例のうち、MSI 陰性が 125 例、陽性が 10 例、判定不能が 3 例であった。IHC 検査を施行していた症例は 9 例であり、大腸癌 1 例と子宮体癌 1 例の計 2 例において検査結果の乖離が認められた。結果の一致率は 77.8% であった (図 3)。乖離を認めた大腸癌症例は、MSI 検査陰性 (MMR 正常)、IHC 検査陰性 (dMMR) であり、同じ手術検体を用いて IHC 検査を再検したが陰性であった。しかしながら、同一患者の大腸生検検体で IHC 検査を実施した結果、一転して陽性 (MMR 正常) を示した。一方、乖離を認めた子宮体癌症例の手術検体の検査結果は、MSI 検査陽性 (dMMR)、IHC 検査陽性 (MMR 正常) であった。本症例は NGS でも解析が行われ、MMR 遺伝子である MSH6 遺伝子の生殖細胞系列変異が検出されたため、MSH6 タンパクの IHC 検査を再検した。MSH6 タンパクの IHC 検査は当初強陽性であったが、再検では陰性 (dMMR) を示した。

	症例数	IHC検査数	一致例	不一致例
MSS	122	3	2	1
MSI-L	3	1	1	0
MSI-H	10	5	4	1
判定不能	3			
計	138	9	7 (77.8%)	2 (22.2%)

図 3 : MSI検査とIHCとの比較結果

同一患者の生検検体を用いた IHC 検査も同じく陰性を示した。方法間の一致率は 77.8% とやや低い結果となったが、これは MSI 検査と IHC 検査の両方を施行した症例が少なかったことが影響したと推測された。結果が不一致となった 2 例は IHC 検査に原因があり、ともに手術検体であることが共通していた。手術検体は生検検体と比較して大型であり、固定液の浸透が不十分となりやすいことから、結果の乖離の原因は検体の固定不良であると考えられた。また、生検検体を

用いた IHC 検査では、2 例とも MSI 検査との結果が一致したことから、MMR タンパクの IHC 検査には手術検体より固定状態が良好な生検検体の方が適している可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 山中勝正、岩泉守哉、前川真人、馬場聡
2. 発表標題 DNAミスマッチ修復機構欠損判定検査における方法間差の検討
3. 学会等名 第62回日本臨床化学会年次学術集会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------