

# マイクロサテライト不安定 (Microsatellite Instability: MSI) 検査とMismatch repair (MMR) タンパク免疫染色の意義

—Lynch症候群のスクリーニング、がんのコンパニオン検査の最近の動向—

The significance of microsatellite instability test and immunohistochemical staining of mismatch repair proteins

-Recent trends of the screening of Lynch syndrome and the companion diagnostics for cancer treatment-

まつ した かず ゆき  
松 下 一 之<sup>1), 2), 3)</sup>  
Kazuyuki MATSUSHITA

## <キーワード>

マイクロサテライト不安定 (Microsatellite Instability: MSI) 検査、Mismatch repair (MMR) タンパク質、Lynch 症候群、がんゲノムプロファイリング (CGP) 検査、コンパニオン診断、免疫チェックポイント阻害剤 (immuno-checkpoint inhibitor: ICI)

## I. 背景

ゲノム上の反復配列 (microsatellite: マイクロサテライト) の不安定性を調べるマイクロサテライト不安定 (Microsatellite Instability: MSI) 検査とその原因となる Mismatch repair (MMR) タンパクの免疫組織学的染色 (以下免疫染色) は、固形癌の免疫チェックポイント阻害剤 (immuno-checkpoint inhibitor: ICI) である Pembrolizumab (Keytruda™) のコンパニオン診断 (CDx) や、常染色体顕性 (優性) 遺伝形式の遺伝性腫瘍である Lynch 症候群の補助診断として保険収載され広く臨床現場で使用されている。本稿では、その基本的な原理と臨床上的有用性、注意するピットフォールなどについて専門外の方にもわかりやすく解説した。前者はゲノム上の特定の繰り返し配列 (tandem repeat: TR) を multiplex PCR や Next generation DNA sequencer (NGS) を用いたがん遺伝子検査パネルなどにより検出する方法であり、後者は免疫染色により病理組織学的に mismatch repair (MMR) タンパク質 (MLH1, MSH2, MSH6,

PMS2) の発現を調べる検査である。両者はいずれも体細胞遺伝子検査であるが、Lynch 症候群 (遺伝性腫瘍) の診断にもつながるため、遺伝学的検査である臨床遺伝の理解も必要である。さらに、近年保険収載されたがんゲノムプロファイリング (CGP) 検査においても、MSI や TMB (Tumor Mutational Burden、腫瘍遺伝子変異量、以下 TMB とする) が、がんのバイオマーカーとして搭載されている。本稿では、そのピットフォールについても筆者が経験した症例を提示して概説する。

## II. ゲノム上の反復配列 (microsatellite: マイクロサテライト) と MSI 検査、MMR の免疫染色の意義

### 1. MSI 検査の意義 (CDx と Lynch 症候群の補助診断)

ヒト細胞の染色体は 46 本 (44 本の常染色体と 2 本の性染色体) あり、その半数 (ハプロタイプ) は約 30 億の塩基配列 (A, G, C, T の遺伝情報) から構成されている。ヒトゲノムには TR が多数存在しており、反復配列 (microsatellite: マイクロサテライト) と呼ばれる。マイクロサテライト領域は細胞分裂の際に MMR タンパク質などにより正確に TR の回数が複製されるが、先天的あるいは後天的な MMR タンパク質の機能異常により、その複製回数に異常が起きる新しい DNA 修復機序が示された<sup>1)</sup>。Lynch 症候群は常染色体顕性 (優性) 遺伝性疾患 (autosomal dominant: AD) で、大腸癌以外にも子宮体 (内膜)

千葉大学医学部附属病院

1) 検査部・臨床検査科、2) 遺伝子診療部、3) がんゲノムセンター  
☎260-8670 千葉市中央区亥鼻1-8-1

Department of Molecular Diagnosis & Division of Clinical Genetics and Proteomics, Center for Cancer Genomics, and Center for Ultrasound, Chiba University Hospital  
(1-8-1 Inohana, Chuo-ku, Chiba, 260-8670, JAPAN)

癌、卵巣癌、胃癌、小腸癌、胆道癌、膵癌、腎・尿路癌、脳腫瘍、皮膚腫瘍などの多くの関連癌がある(表1, 2)<sup>2-6)</sup>。そのため早期の診断が患者の予後、未発症の臓器のスクリーニングやQOLに大きく影響する。また、ADであるため未発症者の血縁者に対する遺伝カウンセリング(genetic counseling; GC)が必要である(図1)。Lynch症候群の大腸癌患者では、MMRタンパクの機能低下により90%以上はMSI-H

(high-frequency MSI)を示す<sup>7)</sup>。一方、大腸がん全体に対するMSI-Hの割合は約6%程度であるため、MSI検査はLynch症候群を疑う症例を絞り込むスクリーニング検査として使用されている(図2)<sup>7,8)</sup>。大腸癌組織でMSI-Hであれば、Lynch症候群の可能性が高いが、子宮体がん組織ではLynch症候群でなくてもMSI-Hであることが多いため注意が必要である。MSI検査の実施に際してはGCを行った上

表1 アムステルダム基準Ⅱ(1999)(Lynch症候群の診断基準の一つ)

少なくとも3人の血縁者がHNPCC(Lynch症候群)関連腫瘍(大腸がん、子宮内膜がん、腎盂・尿管がん、小腸がん)に罹患しており、以下のすべてを満たしている。

1. 1人の罹患者はその他の2人に対して第1度近親者である。
2. 少なくとも連続する2世代で罹患している。
3. 少なくとも1人のがんは50歳未満で診断されている。
4. 腫瘍は病理学的にがんであることが確認されている。
5. FAP(Familial polyposis coli: 家族性大腸腺腫症)が除外されている。

表2 改訂ベセスダガイドライン(2004)(Lynch症候群の診断基準の一つ)

以下の項目のいずれかを満たす大腸がん患者には、腫瘍のMSI検査が推奨される。

1. 50歳未満で診断された大腸がん。
2. 年齢に関わりなく、同時性あるいは異時性大腸がんあるいはその他のLynch症候群関連腫瘍\*がある。
3. 60歳未満で診断されたMSI-Hの組織学的所見\*\*を有する大腸がん。
4. 第1度近親者が1人以上Lynch症候群関連腫瘍に罹患しており、そのうち一つは50歳未満で診断された大腸がん。
5. 年齢に関わりなく、第1度あるいは第2度近親者の2人以上がLynch症候群関連腫瘍と診断されている患者の大腸がん。

Lynch症候群関連腫瘍\*：大腸がん、子宮内膜がん、胃がん、卵巣がん、膵がん、胆道がん、小腸がん、腎盂・尿管がん、脳腫瘍(通常はTurcot症候群にみられるglioblastoma)、Muir-Torre症候群における皮脂腺腫(Sebaceous gland adenoma)や角化棘細胞腫(Keratoachantoma)、角化棘細胞腫

MSI-Hの組織学的所見\*\*：腫瘍内リンパ球浸潤、クローン様リンパ球反応、粘液がん・印環細胞がん様分化、髄様増殖

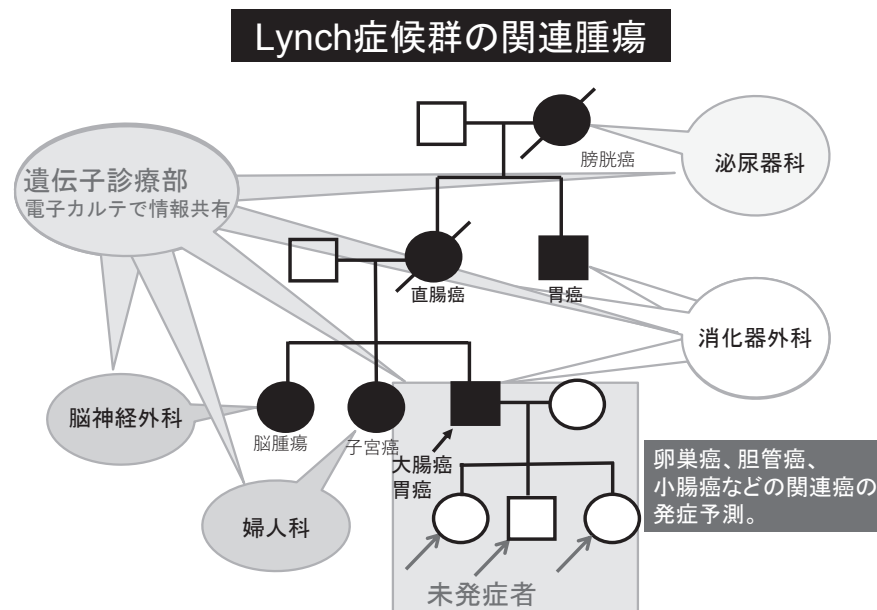


図1 Lynch症候群の家系図と関連腫瘍の例

Lynch症候群(常染色体顕性(優性)遺伝性疾患)ではMSI(microsatellite instability)検査とMMR免疫染色が保険適用となっている。

## 千葉大学病院検査部におけるMSI検査のまとめ

2013年5月—2022年4月

検体	方法	検査総数	陽性数	BRAF変異	Diag.
Lynch症候群 スクリーニング (2013.5-2021.6現在)	FFPE MMR免疫染色 Multiplex PCR (プロメガパネル)	1339	110 (8.2%)	Positive(49) 44.5% Negative(61) 55.5%	CIMP
CDx 免疫チェックポイント阻害剤 (Pembrolizumab) (2018.12-2021.6現在)	FFPE Multiplex PCR (プロメガパネル) 末梢血 TMB	485	41 (8.5%)	子宮体癌 16 子宮頸癌 2 胃癌 17 肝臓癌 1 胆管癌 2 食道癌 1 十二指腸癌 2	Lynch症候群 疑い含む
Germ line ( <i>MLH1, MSH2, MSH6, PMS2</i> ) (2005-)	末梢血 サンガー法 NGS法 NGSパネル 発端者 15 At risk 15	35 29		重複、欠失、indel, fs, Nonsense, missense, Silent→スプライシング異常 <i>MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EpCAM, MSH2 del</i>	Lynch症候群

図2 千葉大学医学部附属病院における Lynch 症候群のミスマッチ修復遺伝子 (*MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EpCAM*) の生殖細胞系列変異検出の遺伝学的検査の結果

で検査に対する同意が必要となる<sup>7,9)</sup>。なお、遺伝性腫瘍に対するGCの歴史は比較的新しく、国内では日本遺伝カウンセリング学会、日本遺伝性腫瘍学会、日本遺伝子診療学会などが様々な活動を行っている。2011年の日本医学会「医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン」では、GCやそれに伴う遺伝学的検査について基本的な考え方が示され、2022年に改定された(後述する)。近年GCは保険収載されたが、Lynch症候群の遺伝学的検査は保険未承認である<sup>10)</sup>。

MMR免疫染色はMMR遺伝子のいずれかの生殖細胞遺伝子の片方のアレル(父由来か母由来のいずれか一方)の不活化あるいは機能低下を調べる検査である。MMR免疫染色が減弱あるいは消失している症例では、生殖細胞系列遺伝子に病的バリエーション(変異)が検出されることがある。MMR免疫染色も2022年10月に保険収載された。この免疫染色の利点は手技が簡単であり、原因となるMMR遺伝子を推定できることが挙げられる。これらは遺伝学的検査に該当することから、実施にあたってはMSI検査と同様にGCによる検査の説明と同意が望ましい<sup>9)</sup>。

## 2. MSI検査の方法について

### 1) Multiplex PCRによるMSI検査

1997年のNCI(National Cancer Institute)コンセンサス会議で、主要な5つのマイクロサテライト反復

配列を含む領域(*BAT25, BAT26, D2S123, D5S346, D17S250*)をマーカーとして使用することが推奨され、二つ以上のマーカーで腫瘍部での長さが変化している場合をMSI-H、一つのマーカーで変化している場合をMSI-L(low-frequency MSI)、いずれも変化していない場合をMSS(microsatellite stable)と判定する。現在では、ベセスダパネル(2塩基繰り返し返し)、Pentalexパネル、Promegaパネル(1塩基繰り返し返し)の3種類が臨床で用いられている。検体は腫瘍および非腫瘍部正常組織の凍結材料、または病理診断に用いるホルマリン固定パラフィン包埋標本を用いる。正常コントロールとしては末梢血を用いても良い(図3)。

### 2) NGSにおけるMSI検査

2019年には、NGSを用いた「CGP検査」の医療実装のために、がんゲノム医療中核拠点病院、同拠点病院、同連携病院が整備され、2023年1月現在、がん組織を用いたFoundationOne® CDxがんゲノムプロファイリング検査とOncoGuide™ NCCオンコパネルシステム、および血液を用いたFoundationOne® Liquid CDxがんゲノムプロファイリング検査の3つが保険収載されている。FoundationOne® CDxがんゲノムプロファイリング検査とFoundationOne® Liquid CDxがんゲノムプロファイリング検査ではNGSによるMSIとTMBが記載されている。

## Lynch症候群とKRAS/NRAS/BRAF遺伝子変異スクリーニング

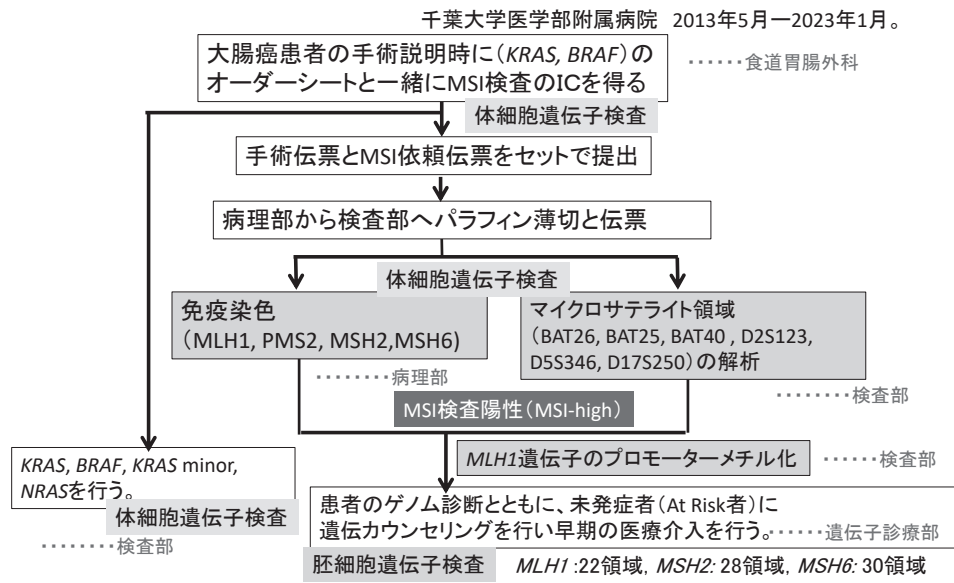


図3 千葉大学医学部附属病院における Lynch 症候群のスクリーニング検査の流れ

千葉大学病院（以下当院）では、手術担当医が大腸癌患者の手術説明時に Lynch 症候群が疑われる患者に対して診療科において MSI 検査のインフォームドコンセントを得る。その後 MMR タンパク質（MLH1, MSH2, MSH6, PMS2）の免疫染色（当院病理部）と 6 か所のマイクロサテライト領域（BAT26, BAT25, BAT40, D2S123, D5S346, D17S250）の解析（同検査部）を施行している。

### 3) NGS における TMB について

TMB は、がん細胞（体細胞）中の後天的に獲得された遺伝子変異の総量を示す値である。NGS によりがん細胞と正常細胞の遺伝子配列を比較して、百万塩基（Mb）あたり何塩基の変異が入っているかで表される。TMB スコアはがんの種類により異なるが、同じがんでも疾患の経過とともに変化することも報告されている。がんの分子標的治療薬である ICI はホルモン産生臓器に働いて、自己免疫疾患発症という重大な副作用のリスクがある。そのため、ICI の使用に際しては治療効果の高い患者を選ぶバイオマーカーが望まれる。

### 3. 発端者（患者）の Lynch 症候群の補助診断としての MSI 検査と MMR 免疫染色

遺伝性腫瘍では臨床検査や予防的手術が保険収載されるようになってきている。そのため、2022 年 3 月に日本医学会ガイドラインが改定された「個人情報および個人遺伝情報の取扱い」では、遺伝学的検査の結果も通常の医療情報と同じ取扱いがされることになった（2011 年の日本医学会ガイドラインでは遺伝子例外主義の考え方がとられていた<sup>9)</sup>）。Lynch

症候群は大腸癌患者の 4% 程度に認められる、臨床検査の現場でよく遭遇する遺伝性腫瘍の一つである（図 2）。しかし症状（発症する癌）が多彩なため、一見関連性がないため気づかれていない場合がある（図 1）。Lynch 症候群が疑われて MSI-H や MMR タンパクの発現減弱がみられた場合には<sup>7,8)</sup>、GC を行った上で確定診断のための遺伝学的検査が必要となる（図 3）<sup>2-4,9)</sup>。一方、MSI 検査は Lynch 症候群のスクリーニング以外にも、Pembrolizumab（Keytruda™）などの ICI のコンパニオン診断として保険収載されている<sup>7,11)</sup>。

### 4. 未発症者（At risk の家系員）に対する Lynch 症候群のスクリーニング検査

Lynch 症候群は、患者本人（発端者）の大腸癌や子宮体癌の既往に加えて、家族歴に注意することで見つかることが多い。MSI 検査が Lynch 症候群のスクリーニング検査として保険適用となって以降、固形癌における検査実施数が大幅に増加している。米国の NCCN ガイドライン（2022 年、第 3 版）では、Lynch 症候群のリスクがある個人を同定するために、診断時年齢または家族歴にかかわらず、すべて



の大腸癌に MSI 検査 / 免疫組織化学的染色によるいわゆるユニバーサルスクリーニングを行っても費用対効果が高いことが示されている<sup>8)</sup>。しかし、国内では Lynch 症候群は遺伝学的検査が保険収載されていない (2023 年 1 月現在)。MMR 遺伝子の遺伝学的検査の早急な保険収載が望まれている。

## 5. Pembrolizumab (Keytruda™) のコンパニオン診断検査 (CDx)

1) MSI 検査は免疫チェックポイント阻害剤 Pembrolizumab (Keytruda™) のコンパニオン診断としても使用されている<sup>12)</sup>。現在の解析法 (mononucleotide-repeat の quasi-monomorphic variation range: QMVR の比較) では、がん組織 DNA のみの MSI 検査では偽陰性をゼロにすることは困難であり、CGP 検査などの他の方法で MSI-H が疑われた場合には、正常コントロール (末梢血 DNA など) との比較が必要である。そのため施設ごとに内部精度管理が求められる (図 3)。

### 2) MMR タンパク質の免疫染色

MMR 免疫組織学的染色: MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 の 4 つの MMR タンパク質の発現を調べ、1 つ以上の発現低下がある場合に MSI 陽性と判断する (図 3)。MMR タンパク質の免疫染色は MSI 検査と同様に、2022 年 (令和 4 年) 10 月に下記の 3 つの使用法が保険収載された。

- 2-1) 抗 PD-1 抗体抗悪性腫瘍剤の固形癌患者への適応を判定するための補助に用いる場合 (CDx)。
- 2-2) 大腸癌における Lynch 症候群の診断の補助に用いる場合。
- 2-3) 大腸癌における抗悪性腫瘍剤による治療法の選択の補助 (Stage II の MSI-high では術後 5FU 療法の効果は認められない<sup>3)</sup> に用いる場合である。

## 6. 目的別の MSI 検査と MMR 免疫染色の具体的なすすめ方

Lynch 症候群が疑われる患者に対し、以下の 1) ~ 3) の手順で確定診断する。

- 1) アムステルダム基準 II (表 1) あるいは改訂ベセスダガイドライン (表 2) を確認する (第 1 次スクリーニング)。
- 2) 腫瘍組織の MSI 検査、あるいは遺伝子産物に対

する免疫染色を行い、MSI-H または免疫染色で異常を確認する (第 2 次スクリーニング) (図 3)。

3) 確定診断として、MMR 遺伝子の生殖細胞系列における病的変異を同定する (保険収載されていない)。

MMR 異常を示すものの Lynch 症候群ではない散発性大腸がんの大半は、*MLH1* プロモーター領域のメチル化による *MLH1* 発現抑制が原因であることがある。このような散発性大腸がんでは約 40% が *BRAF* V600E 変異陽性 (体細胞バリエーション) であるが Lynch 症候群ではほとんどが陰性である。つまり、*BRAF* V600E 変異を認めれば Lynch 症候群はほぼ否定できる。このため MSI-H または免疫染色で *MLH1* 蛋白質の発現消失を認める症例では、腫瘍組織の *BRAF* 検査を行う (保険収載されている)。遺伝学的検査の前後に遺伝カウンセリングを行うことが望ましい。

## III. 日本医学会ガイドラインの改定とゲノム医療法の成立

### 1. 日本医学会ガイドライン: 個人遺伝情報の電子カルテにおける取扱い

2011 年 2 月に制定された日本医学会ガイドラインは 2022 年 3 月に改定された。その中では「遺伝学的検査・診断は、すべての診療科の医師にとって重要な医療行為になりつつある。医療安全およびチーム医療の観点から、遺伝情報を含むすべての診療記録はアクセスが必要なすべての医療従事者に適切に共有される必要がある。さらに、個人の遺伝情報の取り扱いにおいては個人情報保護法等を遵守することが求められる。」と改訂された。「診療記録への記載」については、「生殖細胞系列の遺伝情報は、一生変化しない情報 (静的情報) であると同時に全身の細胞で共通という臓器横断的な情報でもある。また、現在の血縁者のみでなく、将来の血縁者にも共有されうる。このような観点から、遺伝情報は、診療科間、および医療従事者間で患者のプライバシー保護に十分に留意する形で適切に共有され、長期間保持される必要があり、遺伝学的検査の結果や遺伝カウンセリングの内容も、原則として他の診療情報と同様に、診療記録に記載する。」となり、従

来紙カルテなどに別に記録していた遺伝学的検査も通常の診療情報と同様に、診療記録（電子カルテ）に記載することになった。このように、従来の遺伝学的検査の結果を電子カルテに記載しないという考え方（遺伝子例外主義）ではなく、現在では遺伝学的検査も結果も長期間にわたり保存され、患者のみならず、家系員にも情報が共有されることになった<sup>9)</sup>。

## 2. 「良質かつ適切なゲノム医療を国民が安心して受けられるようにするための施策の総合的な推進に関する法律」（ゲノム医療法）の成立。

体細胞や生殖細胞系列の遺伝情報を詳細に調べ、診療に活用する「ゲノム医療」の提供体制が整備されれば、広く国民に正確な診断法や治療法が普及すると期待される。一方で、生まれながらにして個人

が有する生殖細胞系列のゲノム情報は、本人およびその家族についても将来の健康状態や障害を予測し得るといった特性がある。そのためゲノム医療の推進にあたっては、不当な差別の防止など生命倫理の立場から適切な配慮が必要である。諸外国では、1990年代以降、ゲノム医療の推進と不当な差別の防止の両輪を実現するため、様々な法制度が設けられている。国内でも患者・家族団体、研究機関、医療機関、製薬企業等から、同様の法律の制定が望まれている。2023年1月から始まった通常国会において超党派「適切な遺伝医療を進めるための社会的環境の整備を目指す議員連盟」より、「良質かつ適切なゲノム医療を国民が安心して受けられるようにするための施策の総合的な推進に関する法律」の法案が提出され、令和5年6月9日に成立した（図4）<sup>13)</sup>。

良質かつ適切なゲノム医療を国民が安心して受けられるようにするための施策の総合的かつ計画的な推進に関する法律案（概要）	
<b>第1 目的</b>	
ゲノム医療が国民の健康の保持に大きく寄与一方、普及に当たって個人の権利利益の擁護のみならず人の尊厳の保持に関する課題に対応する必要 → <b>ゲノム医療施策（良質かつ適切なゲノム医療を国民が安心して受けられるようにするための施策）を総合的・計画的に推進</b>	
<b>第2 定義</b>	
ゲノム医療：個人の細胞の核酸を構成する塩基の配列の特性又は核酸の機能の発揮の特性に応じて行う医療 ゲノム情報：人の細胞の核酸を構成する塩基の配列若しくはその特性又は核酸の機能の発揮の特性に関する情報	
<b>第3 基本理念</b>	
① ゲノム医療の研究開発及び提供に係る施策を相互の有機的な連携を図りつつ推進することにより、 <b>幅広い医療分野における世界最高水準のゲノム医療を実現し、その意識を広く国民が享受できるようにすること</b>	
② ゲノム医療の研究開発及び提供には、子孫に受け継がれ得る遺伝子の操作を伴うものその他の人の尊厳の保持に重大な影響を与える可能性があるものが含まれることに鑑み、その研究開発及び提供の各段階において <b>生命倫理への適切な配慮</b> がなされるようにすること	
③ 生まれながらに固有で子孫に受け継がれ得る個人のゲノム情報には、それによって当該個人はもとよりその家族についても将来の健康状態を予測し得る等の特性があることに鑑み、ゲノム医療の研究開発及び提供において得られた <b>ゲノム情報の保護（※）が十分に図られるようにするとともに、ゲノム情報による不当な差別が行われることのないようにすること</b>	
※ 個人情報（氏名とともに記録されている塩基の配列に関する情報、全ゲノム情報等）のほか、これに該当しないゲノム情報も対象	
<b>第7 基本的施策</b>	
<b>1 ゲノム医療の研究開発及び提供に係る体制の整備等</b>	<b>4 医療以外の目的による解析の質の確保等</b>
(1) ゲノム医療の研究開発の推進	(1) 解析の質の確保、受検者への相談支援
(2) ゲノム医療の提供の推進	(2) 生命倫理への適切な配慮、ゲノム情報の適正な取扱い、差別等への適切な対応の確保
(3) 情報の蓄積、管理及び活用に係る基盤の整備	
(4) 検査の実施体制の整備等	
(5) 相談支援に係る体制の整備	
<b>2 生命倫理への適切な配慮の確保</b>	<b>5 その他の施策</b>
<b>3 ゲノム情報の適正な取扱い及び差別等への適切な対応の確保</b>	(1) 教育及び啓発の推進等
(1) ゲノム情報の適正な取扱いの確保	(2) 人材の確保等
(2) 差別等への適切な対応の確保	(3) 関係者の連携協力

図4 良質かつ適切なゲノム医療を国民が安心して受けられるようにするための施策の総合的な推進に関する法律（ゲノム医療法）の概要

（文献13）、超党派ゲノム議連 事務局長 中島克仁衆議院議員よりご提供）

## IV. MSI検査とMMR免疫染色の ピットフォール

### 1. CpG island methylator phenotype (CIMP) について

MSI検査が陽性 (MSI-High) を示す散発性大腸癌がある。MSI-Highを示す主な原因は *MLH1* のプロモーター領域の後天的なメチル化である (図5)<sup>7,14)</sup>。また、MSI-Hを示す散発性大腸癌では、*BRAF* の体細胞変異 (V600E) を高頻度に認めるが、Lynch症候群ではほとんど検出されないため、*BRAF* 変異の有無が両者の鑑別に利用されている (図3, 5)<sup>1-3,7)</sup>。しかし、*PMS2* に変異がある Lynch症候群の大腸癌

では、一部に *BRAF* 変異を認めることが報告されており、判定には注意が必要である<sup>2)</sup>。また、MSI-Hとならない Lynch症候群例があることが明らかになっており、その一つは *MSH6* に変異がある場合である。*MSH6* に変異がある場合に異常が検出されるのは、主に1塩基の繰り返し配列の異常であり、NCIパネルの5つのマーカーへBAT40を追加すると検出率が上がる<sup>7)</sup>。そのため、Lynch症候群の正確な診断にはMSI検査に加えて、関連する修復タンパク質の免疫組織学的 (IHC) 染色 (発現低下の確認) と関連するDNA修復遺伝子プロモーターのメチル化を考慮する必要がある (図5)<sup>8)</sup>。DNAのメチル基修飾、ヒストンのアセチル化などが代表的であるが、DNAメチル化異常は特に癌領域において存在診断、病態診断、発癌リスクの評価などへの臨

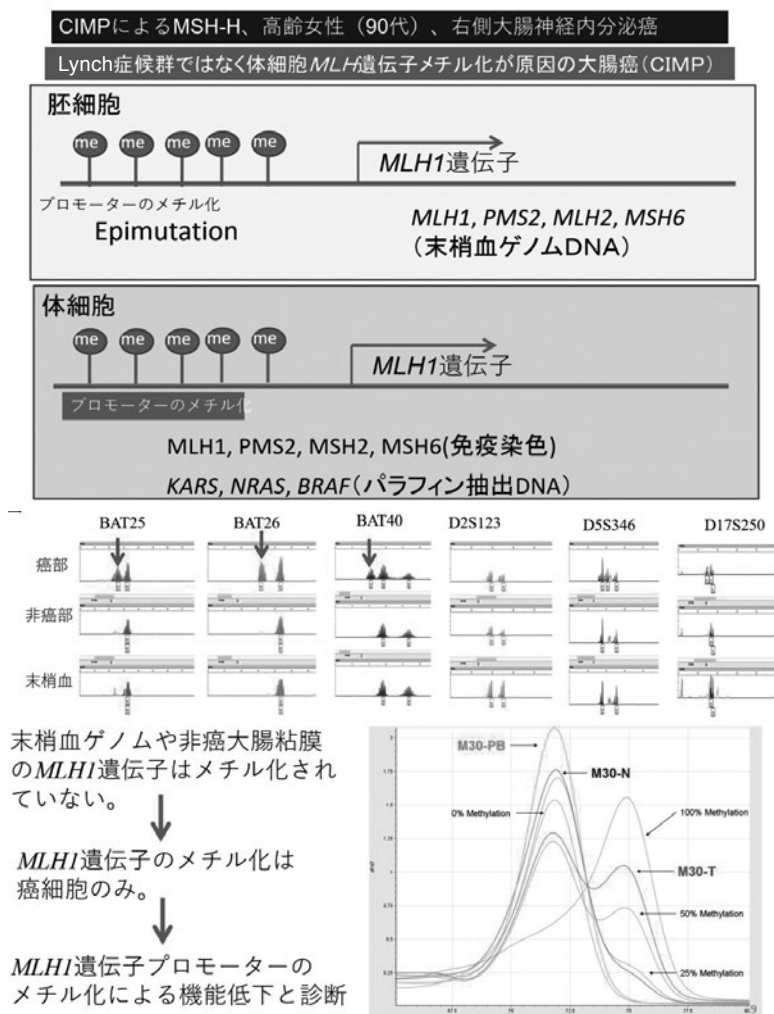


図5 高齢女性の *MLH1* のプロモーターにメチル化が認められた CIMP の症例  
CIMP では MSI-H で *BRAF* V600E 変異が認められる。



床検査への応用が期待される。さらには遺伝子上の CpG 配列に認められるメチル化や DNA に結合するヒストン蛋白質のエピジェネティックな変化 (DNA そのものの変異ではなく、DNA 周囲環境の変化) を癌の指標にしようとする方法も検討されている<sup>2,8)</sup>。すなわち *MLH1* promoter のメチル化と MSI の検出は大腸癌の診断や治療の層別化、すなわち Lynch 症候群や CIMP の鑑別に役立つ。

Lynch 症候群を確定診断する目的の胚細胞系列遺伝子検査 (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*) に必要な GC に対しては、令和 2 年度 (2020 年) 診療報酬の見直しがあり GC も遺伝学的検査についても保険収載された。MSI-H の大腸がんは比較的頻度が高く (当院の 1,339 大腸癌症例中 110 例 8.2%)、MSI-H のうち *BRAF* V600E 変異陰性の 61 例 55.5% が Lynch 症候群であり、*BRAF* V600E 変異が陽性の 49 例 44.5% が CIMP と考えられた (図 2)。生殖細胞系列遺伝

子の確定診断も当院遺伝子診療部で GC を行った後に当院検査部で行っている (図 2, 3)。

## 2. 実際の症例におけるピットフォール (千葉大学病院の症例)。

1) 症例 1 (MSI 検査と MMR 免疫染色が不一致の症例) : MSI 検査では MSI-H であったが MMR タンパクの免疫染色発現低下が確認されなかった例。子宮がんが大腸癌が合併していた 40 代の女性。マイクロサテライト領域 (*BAT26*, *BAT25*, *D2S123*, *D5S346*, *D17S250*) の解析はいずれも短縮あるいは延長を認めた。しかし、MMR タンパク (*MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, *MLH1*) の免疫染色はすべて発現が認められた。MSI 検査と MMR 免疫染色が不一致の症例であった (図 6)。その理由は、*MLH1* の exon12,13 の重複があったため、MMR 免疫染色では発現低下が認められずに MSI 検査で MSI-H になったと考えられた (後述)。

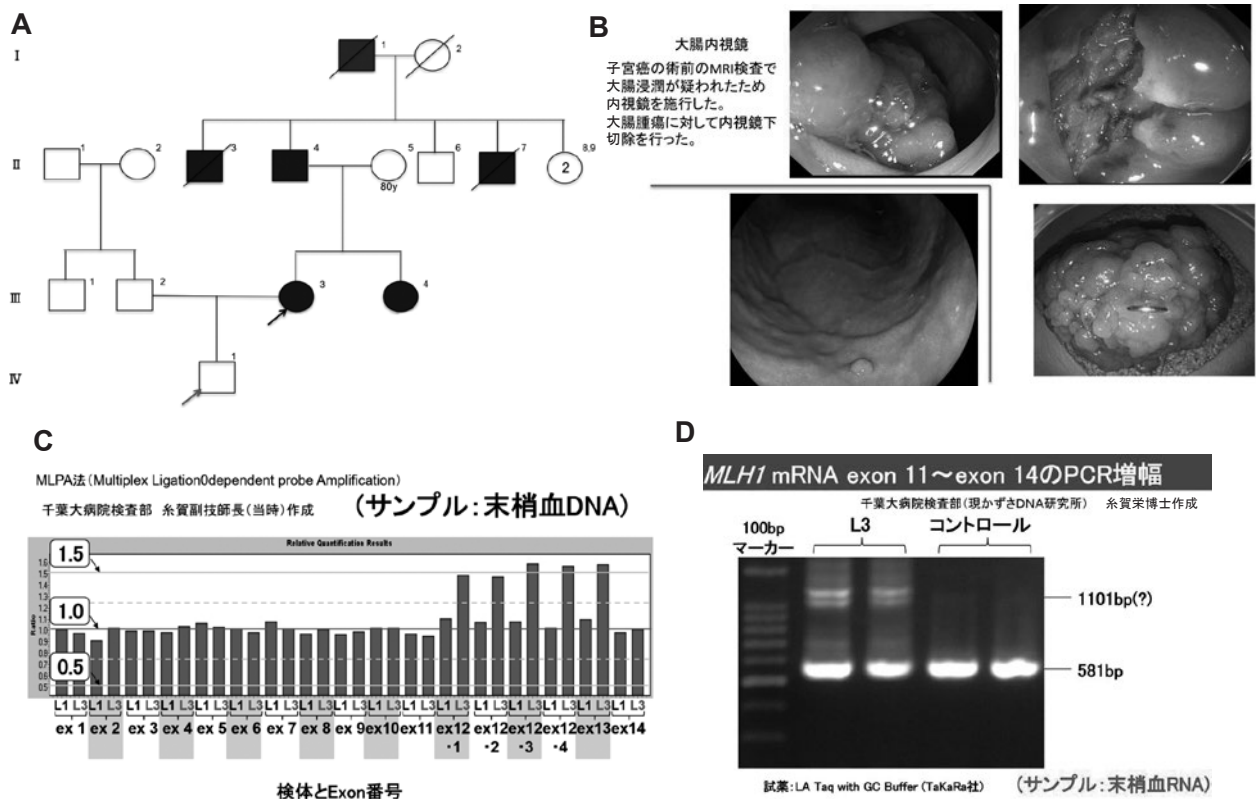


図 6 Lynch 症候群の MSI 検査と MMR 免疫染色の不一致例 (*MLH1* の exon12-13 の重複例)

- 家系員に Lynch 症候群関連が認められる。
- 大腸内視鏡では大腸癌が認められた。
- MLPA 法で *MLH1* の exon12-13 の重複が認められた。
- 患者末梢血 mRNA では *MLH1* mRNA の exons11-14 の伸長が認められた。

(千葉大学医学部附属病院 食道胃腸外科 宮内英聡先生よりご提供いただきました)

(図 6 は巻末にカラーで掲載しています)



2) 症例 2 (まれな Lynch 症候群の一亜系: Muir-Torre 症候群)。多発脂腺癌、進行小腸癌、多発肺転移、多発リンパ節転移 (左鎖骨上窩、左腸間膜、腹部傍大動脈) を合併した症例。X-4 年より、多形慢性痒疹に対してプレドニゾロンとシクロスポリン内服による加療を開始した。X-2 年より、頭頸部を中心に脂腺腺腫、有棘細胞癌、ケラトアkantoma が多発してきたため、増大するものを切除しつつ、定期的な全身 CT 撮影でフォローしていた (図 7)。抗 PD-1 抗体 (ペムブロリズマブ) が著効した。遺伝学的に MSH2 のイントロン中に変異が認められた (c.942+3A>T)。c.942+3A>T について、スプライスドナーサイトであり、RNA レベルで r.793\_942del バ

リアント、蛋白質レベルでは p.Val265\_Q314del (exon 5 skipping) が想定され、実際の患者末梢血 RNA を調べて、MSH2 exon 5 skipping を確認した。

3) 症例 3。脳腫瘍の CGP 検査で MSI-H が診断された Lynch 症候群の症例 (小脳グリオーマ)。原発は子宮体癌、術後放射線化学療法施行。その後右小脳異常 FLAIR 高信号病変に関して経過観察した。約 8 年間画像所見に著変なかったがめまい、食思不振が認められ開頭腫瘍摘出術施行し、同組織を用いて CGP 検査 (FoundationOne CDx) を行った (図 8)。本症例は当院において子宮体癌、直腸がんに対して Lynch 症候群の遺伝学的検査が行われて、同症候群の医療介入と経過観察が行われていた (MSH2 ;

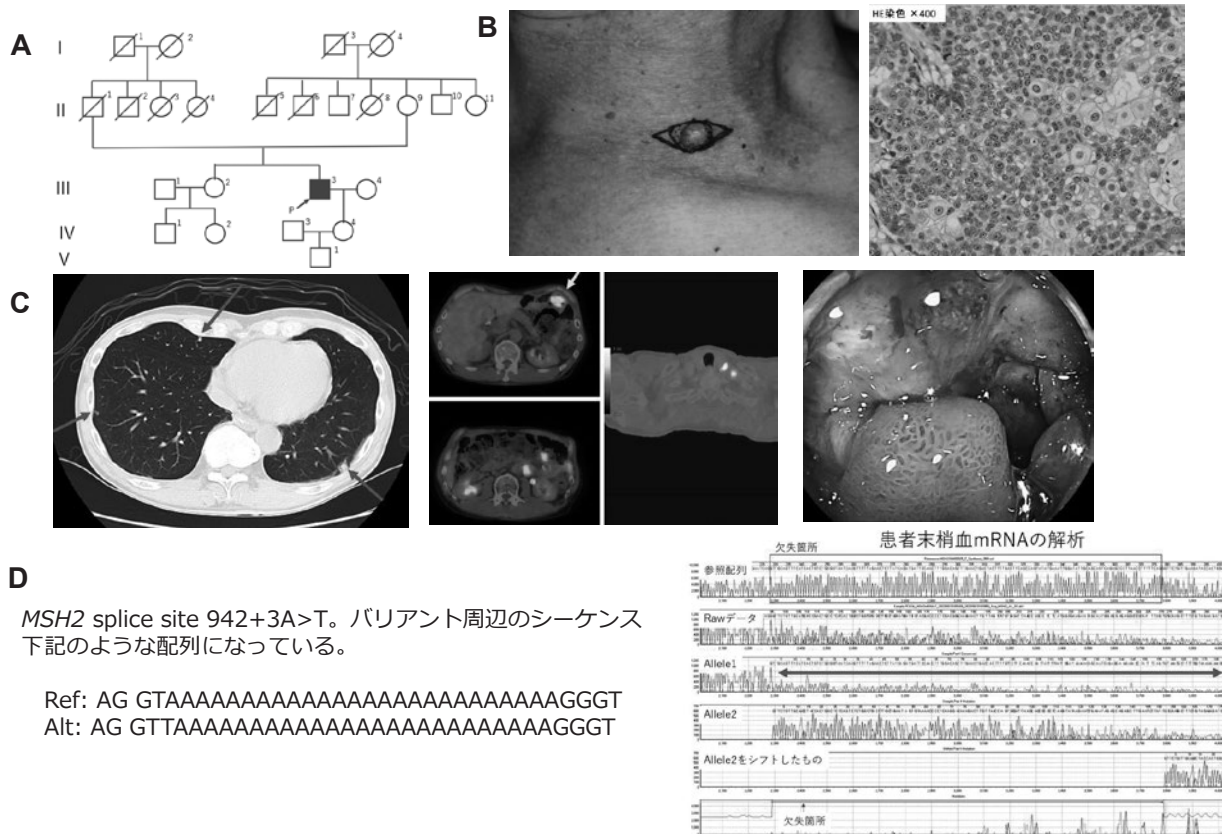


図 7 まれな Lynch 症候群の一亜系 (Muir-Torre 症候群)

多発脂腺癌、進行小腸癌、多発肺転移、多発リンパ節転移 (左鎖骨上窩、左腸間膜、腹部傍大動脈) を合併した症例。**A.** 家系図では発端者以外に Lynch 症候群の関連癌は見られなかった。**B.** 頸部から前胸部にかけて多発性の皮膚腫瘍を認めた。**C.** 皮膚腫瘍の摘出標本の病理所見。**D.** MSH2 splice site 942+3A>T はバリエント周辺のシーケンスは下記のような配列になっている。

Ref: AG GTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGGGT  
Alt: AG GTTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGGGT

この場所は MSI 検査では BAT26 というマーカーの位置になっており、MSI-H 癌では poly A stretch の繰り返し回数が大きく変化する。また、ホモポリマー領域であり NGS の精度が落ちる場所でもある。したがって、癌組織のみを扱う CGP 検査では通常多数の indel variant を認めるため、アノテーションの際に偽陽性の判定で注意を要する箇所となっている。

(千葉大学医学部附属病院 皮膚科 猪爪隆史先よりご提供いただきました)

(図 7 は巻末にカラーで掲載しています)

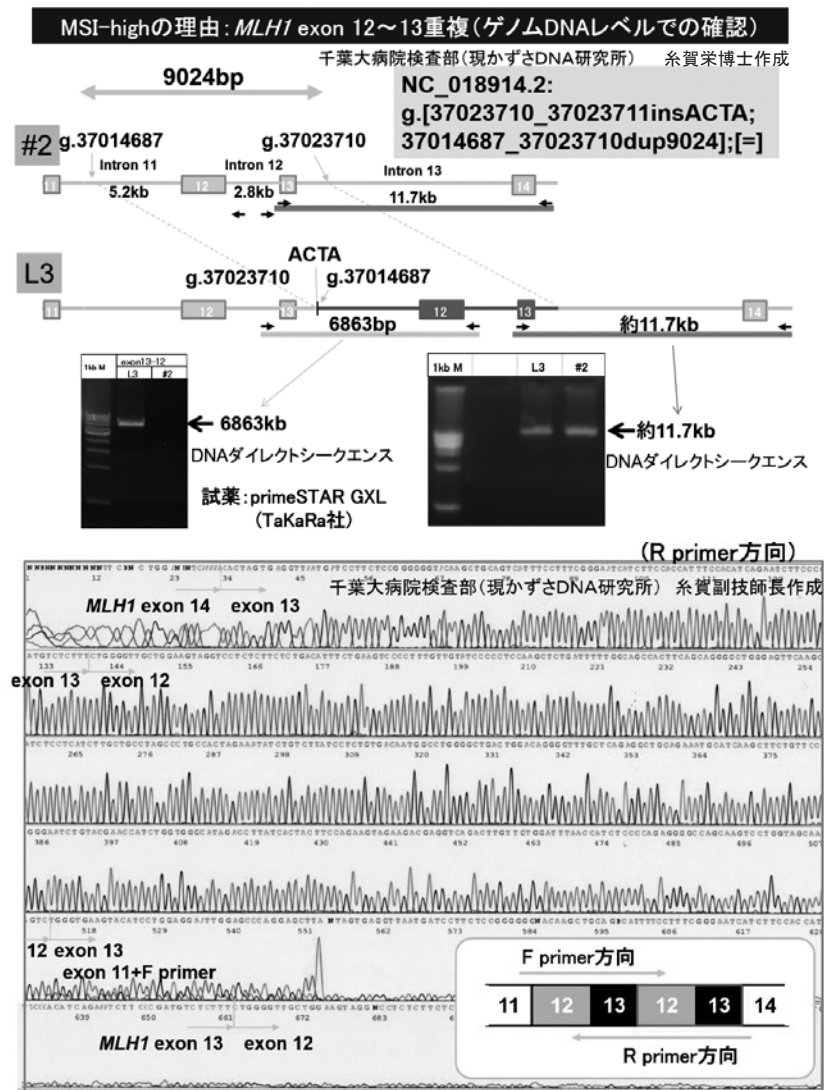


図8 MSI検査とMMR免疫染色の不一致の症例では  
*MLH1*のexon12-13の重複が認められた

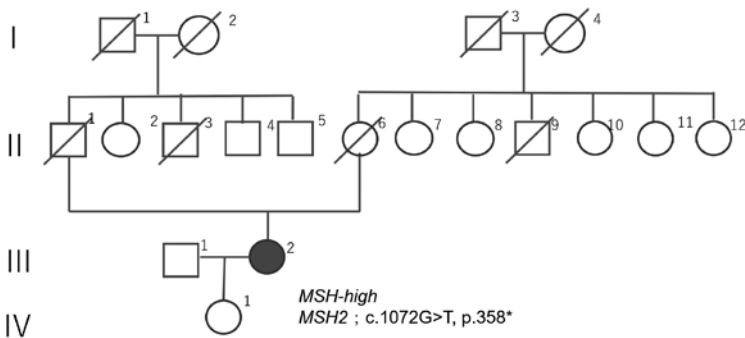
c.1072G>T, p.358\*)。E749fs\*14; 2247delA (43.9%)は原発巣がなく、脳転移巣で出現したと考えられた(図9)。

### 3. MSI検査とMMR免疫染色の不一致例について

ミスマッチ修復機構が損なわれると腫瘍細胞制御システムやDNA損傷修復反応、アポトーシスなどに関わる遺伝子変異が誘発され、腫瘍が発生する(内外のDNA損傷刺激により腫瘍が発生しやすい)と考えられている<sup>1)</sup>。上述した症例1は*MLH1*のexon12,13の重複があったため、MMR免疫染色では発現低下が認められずにMSI検査でMSI-Hになったと考えられた(図8, 10)。

## V. まとめ

厚生労働省のゲノム情報を用いた医療等の実用化推進タスクフォースでは、Lynch症候群に対するMSI検査を用いたユニバーサルスクリーニングの有用性について議論された。さらに日本臨床腫瘍学会や米国FDAなどで、MSI検査の免疫チェックポイント阻害剤のコンパニオン診断としての有用性の議論を経て、マルチプレックスPCR-フラグメント解析法が固形腫瘍の腫瘍細胞を用いた悪性腫瘍遺伝子検査として、2018年12月1日より保険収載された。さらに、現在、ほとんどのCGP検査は海外で行われているが、その国内化が課題である<sup>13, 15)</sup>。今後、これらの多くの課題について同時進行で議論を深めて



特記事項； CNS/Brain, Glioblastoma

MSI-high	MSI-high			
TMB(領域全体)	19, High	Muts/Mb	責任医師氏名	松下 一之
LOH(卵巣癌のみ)	NA	%		
Tumor fraction (Liquidのみ)	NA	%		

Pathogenic variants

遺伝子名	遺伝子変化の種類	遺伝子変化の詳細	C-CAT	FoundationOne
ATM	Frameshift, LOF	S2812fs*3; 8432_8433insA (34.5%)	○	○
DNMT3A	Missense, LOF	R771Q; 2312G>A (42.6%)	○	○
HNF1A	Frameshift, LOF	P291fs*51	○	○
MSH2	Frameshift, nonsense, LOF	E749fs*14; 2247delA (43.9%), E358*; 1072G>T (46.1%)	○	○

原発巣ではなく、  
脳転移部に出現

図9 脳腫瘍のCGP検査でMSI-Hが診断されたLynch症候群の症例 (Cerebellar Glioma)

子宮体癌、直腸がんに対してLynch症候群の遺伝学的検査が行われ経過観察が行われていた(MSH2; c.1072G>T, p.358\*)。E749fs\*14; 2247delA (43.9%)は原発巣ではなく、脳転移巣で出現したと考えられた。

(千葉大学医学部附属病院 脳神経外科 松谷智郎先生よりご提供いただきました)

MSI-high症例のまとめ：家族歴とMSIの両方が重要

MSI-high	年齢	性別	BRAF	MLH1メチル化	MLH1	MSH2	MSH6	PMS2	genome	MLH1/MSH2/MSH6
M30	91F		V600F	陽性	低下	低下	発現	発現	CIMP	
M62	45F		陰性	陰性	発現	発現	発現	発現	Lynch	家族歴・ゲノム変異
M63	59M		陰性	陽性	低下	発現	発現	低下	CIMP?	
M66	66M		V600E	陽性	発現	発現	発現	低下	CIMP?	
M77	79M		V600E	陽性	低下	発現	発現	低下	CIMP?	
M79	57M		陰性	陰性	発現	低下	発現	発現	Lynch	
M84	81F		V600E	陰性	発現	発現	発現	発現	?	
M108	63M		陰性	陰性	発現	発現	発現	発現	Lynch susp	
M118	58M		陰性	陰性	発現	発現	発現	発現	Lynch	家族歴・ゲノム変異
M121	85F		V600E	陽性	発現	発現	発現	発現	CIMP	
M131	43F		陰性	陰性	未	未	未	未	Lynch	
M135	43F		陰性	陰性	未	未	未	未	Lynch	
M139	74F		陰性	陰性	未	未	未	未	Lynch susp	
M150	80M		V600E	陽性	低下	発現	発現	低下	CIMP?	
M151	86F		V600E	陽性	低下	発現	発現	低下	CIMP?	
M178	67M		陰性	陰性	発現	発現	発現	発現	Lynch susp	
M183	82F		V600E	陽性	低下	発現	発現	低下	CIMP	
M191	72M		陰性	陰性	発現	低下	低下	発現	Lynch susp	
M205	76F		V600E	陽性	低下	発現	発現	低下	CIMP?	
M217	82F		陰性	陰性	発現	低下	発現	発現	Lynch susp	
M225	32M		陰性	陰性	低下	発現	発現	低下	Lynch	家族歴・ゲノム変異
M232	89M		V600E	陽性	低下	発現	発現	低下	CIMP?	
M267	61F		V600E	検討中	低下	発現	発現	低下	CIMP?	
M290	63F		陰性	検討中	低下	発現	発現	低下		
M313	46F		陰性	検討中	発現	発現	発現	発現	Lynch susp	
M327	67F		陰性	検討中	低下	発現	発現	低下		

26例中7例23%  
は免疫染色でMMR  
タンパク質が発現

図10 MSI検査とMMR免疫染色の不一致例について



いく必要がある。臨床検査の関係者はこれらのテーマについて主体的に関与することが求められている。臨床検査の見地から Lynch 症候群のスクリーニング検査として用いられてきた MSI 検査や MMR 免疫染色（保険収載）が、Lynch 症候群のスクリーニング（遺伝学的検査）や CDx（保険収載）として医療現場で2つの別の目的で利用されている現状などについてまとめた。

今後のゲノム医療に重要な遺伝情報の取扱いに関する日本医学会ガイドラインの改定や「ゲノム医療法」が成立したことについても簡単に記載した。

## 謝 辞

本稿を書くにあたり、千葉大学医学部附属病院検査部、同遺伝子診療部、同がんゲノムセンターの関係者にあつくお礼を申し上げます。

貴重な症例をご紹介いただきました千葉大学医学部附属病院 食道胃腸外科 宮内英聡先生、同脳神経外科 松谷智郎先生、同皮膚科 猪爪隆史先生に深謝いたします。

## 利益相反

本論文の内容に関する利益相反はありません。

## 文 献

- 1) Daniel Cressey. DNA-repair sleuths win chemistry Nobel Nature (2015-10-15) | DOI:10.1038/nature.2015.18515
- 2) 大腸癌研究会編：遺伝性大腸癌診療ガイドライン2020年版, 金原出版, 65-81, 2012.  
[https://www.jsccr.jp/guideline/data/guideline2020\\_public\\_comment.pdf](https://www.jsccr.jp/guideline/data/guideline2020_public_comment.pdf) (2023年1月28日確認)
- 3) 家族性腫瘍学—家族性腫瘍の最新研究動向—。日本臨床増刊号。2015年8月。
- 4) Idos G and Valle L. Lynch Syndrome. Genereviews NCBI. Initial Posting: 2004; Last Update: 2021.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1211/> (2023年1月28日確認)
- 5) Vasen HF, Mecklin JP, Khan PM, et al.: The International Collaborative Group on Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer (ICG-HNPCC). Dis Colon Rectum 1991; **34**: 424-425.
- 6) Umar A, Boland CR, Terdiman JP, et al.: Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. J Natl Cancer Inst 2004; **96**: 261-268.
- 7) 「Lynch症候群について」日本消化器病学会附置研究会がんゲノム医療時代におけるLynch症候群研究会編。2021年  
<https://osaka-gs.jp/wp/wp-content/uploads/2021/08/Lynch%E7%97%87%E5%80%99%E7%BE%A4%E7%A0%94%E7%A9%B6%E4%BC%9A.pdf> (2023年1月28日確認)
- 8) National Comprehensive Cancer Network; NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®). Colon Cancer. Version 3.2022 — January 25, 2023
- 9) 日本医学会「医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン」(2011年2月、2022年3月改定)  
[https://jams.med.or.jp/guideline/genetics-diagnosis\\_2022.pdf](https://jams.med.or.jp/guideline/genetics-diagnosis_2022.pdf) (2023年1月28日確認)
- 10) 令和2年度診療報酬改定の概要(技術的事項) 令和2年3月5日版. 厚生労働省保険局医療課.  
<https://www.mhlw.go.jp/content/12400000/000616844.pdf>
- 11) 山口達郎他. Lynch syndrome(リンチ症候群). 日本臨床腫瘍学会編：大腸癌診療における遺伝子関連検査のガイドライン第3版, 金原出版, 167-174, 2016.
- 12) 大腸がん診療における遺伝子関連検査のガイドライン. 日本臨床腫瘍学会編. 金原出版. 第3版. 2016年11月.
- 13) 衆議院ホームページ、「良質かつ適切なゲノム医療を国民が安心して受けられるようにするための施策の総合的かつ計画的な推進に関する法律案」(2023年6月9日確認)  
[https://www.shugiin.go.jp/internet/itdb\\_gian.nsf/html/gian/honbun/houan/g21105018.htm](https://www.shugiin.go.jp/internet/itdb_gian.nsf/html/gian/honbun/houan/g21105018.htm)
- 14) Obul J, Itoga S, Abliz M, et al. High-resolution melting analyses for gene scanning of APC, MLH1, MSH2, and MSH6 associated with hereditary colorectal cancer. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2012; **16**(5): 406-411. doi:10.1089/gtmb.2011.0166
- 15) がんゲノム遺伝子パネル検査のフローチャート. 臨床検査振興協議会 医療政策委員会 ゲノム検査に関する小委員会編. 臨床検査振興協議会. 第2.0版作成日：2019年5月31日.  
[https://www.jamt.or.jp/data/asset/docs/20190531\\_ver2.0.pdf](https://www.jamt.or.jp/data/asset/docs/20190531_ver2.0.pdf) (2023年1月28日確認)

臨床検査アップデート87

「マイクロサテライト不安定(Microsatellite Instability: MSI)

検査とMismatch repair (MMR) タンパク免疫染色の意義

—Lynch症候群のスクリーニング、がんのコンパニオン検査の最近の動向—

松下一之

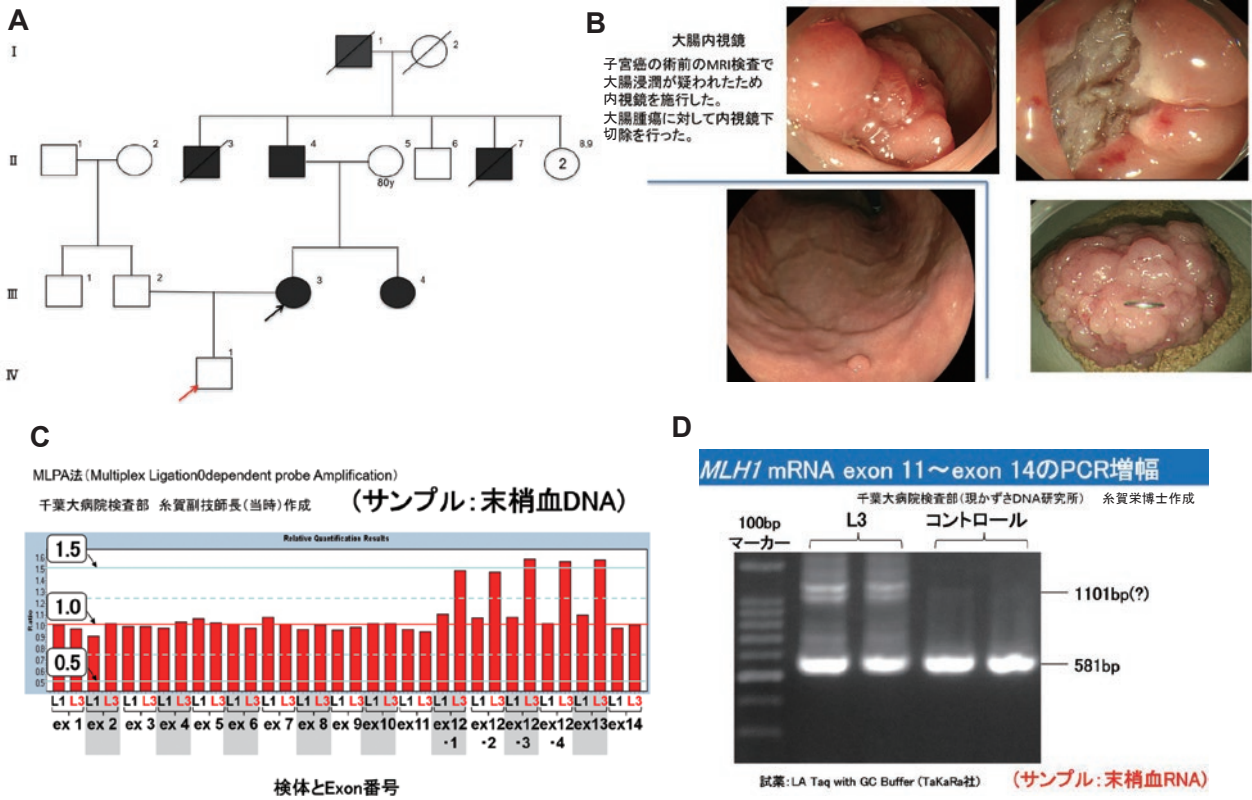


図6 Lynch症候群のMSI検査とMMR免疫染色の不一致例  
(*MLH1*のexon12-13の重複例)

- A. 家系員にLynch症候群関連が認められる。
- B. 大腸内視鏡では大腸癌が認められた。
- C. MLPA法で*MLH1*のexon12-13の重複が認められた。
- D. 患者末梢血mRNAでは*MLH1*mRNAのexons11-14の伸長が認められた。

(千葉大学医学部附属病院 食道胃腸外科 宮内英聡先生よりご提供いただきました)

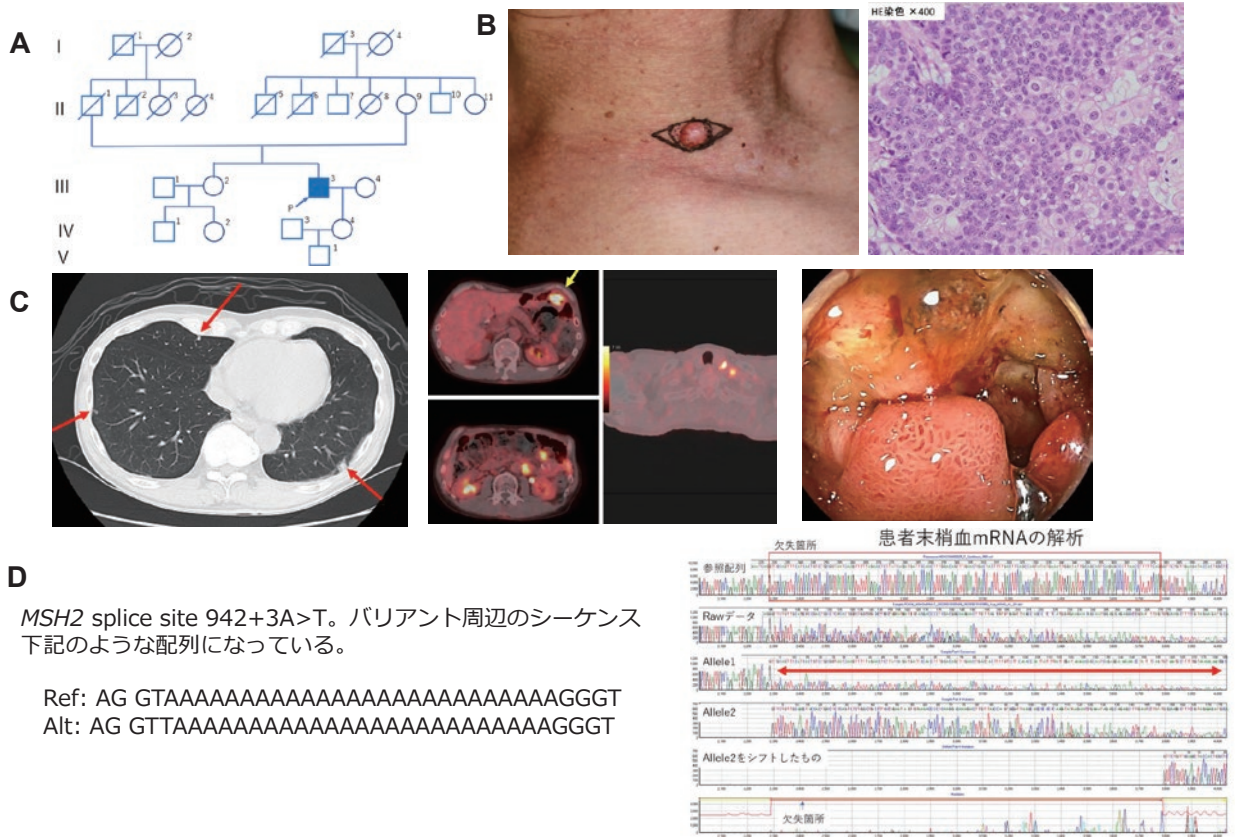


図7 まれな Lynch 症候群の一亜系 (Muir-Torre 症候群)

多発脂腺癌、進行小腸癌、多発肺転移、多発リンパ節転移 (左鎖骨上窩、左腸間膜、腹部傍大動脈) を合併した症例。  
**A.** 家系図では発端者以外に Lynch 症候群の関連癌は見られなかった。**B.** 頸部から前胸部にかけて多発性の皮膚腫瘍を認めた。**C.** 皮膚腫瘍の摘出標本の病理所見。**D.** *MSH2* splice site 942+3A>T はバリエント周辺のシーケンスは下記のような配列になっている。

Ref: AG GTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGGGT  
 Alt: AG GTTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGGGT

この場所は MSI 検査では BAT26 というマーカーの位置になっており、MSI-H 癌では poly A stretch の繰り返し回数が大きく変化する。また、ホモポリマー領域であり NGS の精度が落ちる場所でもある。したがって、癌組織のみを扱う CGP 検査では通常多数の indel variant を認めるため、アノテーションの際に偽陽性の判定で注意を要する箇所となっている。

(千葉大学医学部附属病院 皮膚科 猪爪隆史先よりご提供いただきました)