

MSI Analysis System を用いたマイクロサテライト不安定性検査について

◎成瀬 有純¹⁾社会医療法人大雄会 医科学研究所¹⁾

〔目的〕 ミスマッチ修復機能欠損に関する検査には、マイクロサテライト不安定 (MSI)検査および免疫染色があるが、そのうち MSI 検査はマイクロサテライト領域の反復回数異常に伴うマイクロサテライトの長さの変化からミスマッチ修復機能を予測するものであり、リンチ症候群のスクリーニング検査として用いられている。近年、免疫チェックポイント阻害剤の有効性と MSI 異常の関連が報告され、コンパニオン診断薬におけるプレアナリティカルな場面での活用も注視されている。今回、我々は大腸がん患者から採取したホルマリン固定パラフィン包埋組織 (FFPET)から採取したゲノム DNA (gDNA)を用いて MSI 検査を実施する機会を得たので報告する。また、併せて実施したミスマッチ修復遺伝子タンパク質関連の免疫染色の結果と比較検討した。

〔対象および方法〕 対象は大腸がん患者の FFPET 57 例を用いた。gDNA は腫瘍部または非腫瘍部から採取したパラフィン組織を用い、High Pure FFPET DNA Isolation Kit (Roche)で抽出した。MSI 検査は MSI Analysis System, Version 1.2 (Promega)を使用した。5つのモノヌクレオチドリピートを呈するマーカー(BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24, Mono-27)のプライマーミックスにて PCR の後、キャピラリー電気泳動を実施した。キャピラリー電気泳動は Applied Biosystems 3130 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific)を使用し、解析は GeneMapper software (Thermo Fisher Scientific)で行った。予め GeneMapper software にて Quasi-Monomorphic Variation Range (QMVR)を設定し、それ以外の位置にピークが認められない場合は正常と判定した。QMVR 以外の位置にピー

クが認められる場合は目視で確認し、ノイズとの鑑別を行った。異常例はすべて非腫瘍部から採取した gDNA についても同様の解析を実施し、比較検討した。2つ以上のマーカーで異常を認める場合を MSI-High (MSI-H)、1つのマーカーで異常を認める場合を MSI-Low (MSI-L)とし、いずれのマーカーでも異常を認めない場合を MS Stable (MSS)とした。免疫染色は MLH1, MSH2, MSH6 および PMS2 抗体 (いずれも Roche) で実施し、タンパク質の発現消失から異常を判断した。

〔結果〕 MSI 検査を実施した 57 例のうち、MSI-H は 12 例、MSI-L は 2 例となり、対象症例全体で 24.6%の異常率を認めた。MSI-H での異常を示したマーカー数は 4.5 ± 0.76 個であった。また、免疫染色との一致率は 93.0%であった。今回実施した症例における GeneMapper software での判定は比較的容易に判定でき、設定した QMVR も妥当であると思われた。また、異常が疑われる症例での非腫瘍部との比較検討は MSI 異常を確定するために有効であると考えられた。57 例中 8 例でシグナルが低く、判定困難な例が認められた。これは FFPET における gDNA の分解が考えられ、PCR 実施時に試料の添加量を調節することで改善した。

〔考察〕 GeneMapper Software を用いた MSI 検査は簡便かつ客観的な判定が実施可能と思われた。また、対象が FFPET の場合、gDNA の分解が起こり得ることから、実施の際は核酸の質についても留意する必要があると考えられた。

連絡先 — 0586-53-3661