

がんゲノムプロファイリング検査にて検出された

遺伝子変異と免疫組織化学染色所見の比較

長岡中央総合病院・病理部；臨床検査技師¹⁾、認定病理検査技師²⁾、病理専門医・分子病理専門医³⁾、臨床検査専門医・遺伝子関連検査精度管理医⁴⁾
柳田 杏奈^{1) 2)}、大橋 珠紀^{1) 2)}、山田 玲^{1) 2)}、五十嵐 俊彦^{3) 4)}

目的：CGP 検査後、検査に提出した病理組織標本を用いた追加検査・再検討はなされない傾向にある。今回、ミスマッチ修復遺伝子変異が検出された症例を用いて、免疫組織化学染色（免疫染色）を実施し、CGP 検査の結果と免疫染色所見の比較を行った。

方法：F1CDx にてミスマッチ修復遺伝子である MSH2 と MLH1 に遺伝子変異が検出された 2 症例を対象とし、ミスマッチ修復タンパクである MLH1、MSH2、MSH6、PMS2 に対して免疫染色を実施した。

成績：MSH2 遺伝子に変異が検出された症例 1 では、腫瘍細胞の核に MSH2 の消失が認められ、MSH6 にも発現消失が認められた。また、MLH1 遺伝子に変異が検出された症例 2 では、腫瘍細胞の核に MLH1 の発現消失が認められたが、PMS2 は完全に発現消失せず、腫瘍細胞の核の一部で発現保持が認められた。

結論：CGP 検査で得られた遺伝子変異と免疫染色所見は一致する症例がある一方で、腫瘍内不均一性やリバージョン変異などの影響により、CGP 検査の結果では認められない所見が免疫染色所見として認められる症例が存在すると考えられる。今回の比較により、免疫染色を用いることで腫瘍の全体像を補完することが可能であり、免疫染色は CGP 検査後の追加検査として有用な方法であることが示唆された。

キーワード：

がんゲノムプロファイリング検査、がんゲノムプロファイリング検査と免疫組織化学染色の比較、免疫組織化学染色、ミスマッチ修復遺伝子、ミスマッチ修復タンパク質、腫瘍内不均一性、リバージョン変異

※ 本文で使用した略語を文末の一覧表に示した。

緒言

CGP 検査は、次世代シーケンサーを用いて複数の遺伝子の複数領域を一度に解析する検査であり、一度の検査で多数の遺伝子変異を解析することが可能である。CGP 検査解析対象の中でも、今回は遺伝性腫瘍症候群に関与するとされているミスマッチ修復遺伝子に着目した。

ミスマッチ修復遺伝子は、ゲノム恒常性維持に必須であり、DNA 複製の際に生じる相補的ではないミスマッチを修復する (MMR) 機能を有している (1)。MMR 機能において重要な役割を担うタンパクに MLH1、MSH2、MSH6、PMS2 がある (表 1)。これらが、相互作用することにより、塩基のミスマッチが修復され、ゲノム恒常性が維持される (1) (2)。MMR 機能の評価は遺伝子解析の他にも免疫染色でも評価が可能である (表 2)。

臨床医を主体とするエキスパートパネルでは、治療薬選択や治験への到達性が重視され、CGP 検査後、検査に提出した病理組織標本を用いた追加検査はなされない傾向にある (3)。今回、F1CDx にてミスマッチ修復遺伝子の変異が検出された 2 症例を用いて、ミスマッチ修復タンパクである MLH1、MSH2、MSH6、PMS2 に対し免疫組織化学染色 (免疫染色) を実施し、CGP 検査の結果と免疫染色所見について比較を行った。

対象と方法

対象

症例 1

70 歳代 男性 臨床診断: 進行性前立腺癌

TUR-Bt 検体を F1CDx に提出し、MSH2 遺伝子に変異が検出された。

症例 2

70 歳代 女性 臨床診断: 左卵巣腫瘍および子宮体部腫瘍

左卵巣腫瘍検体を F1CDx に提出し、MLH1 遺伝子に変異が検出された。

症例の詳細は、表 3 に示した。

方法

免疫染色

10% 中性緩衝ホルマリン固定を行った対象組織のパラフィンプロックを用いてニチレイ社のヒストステイナー36A、ヒストステイナー48A にて免疫染色を実施した。また、一次抗体には BIOCARE medical 社の抗 MLH1、MSH2、MSH6、PMS2 抗体を用いた。免疫染色の工程の詳細は表 4、一次抗体の詳細は表 5 に示した。

評価方法

各症例の腫瘍細胞における核の MLH1、MSH2、MSH6、PMS2 発現保持または消失を評価した。

結果

F1CDx で MSH2 遺伝子変異が検出された症例 1 では、MSH2 の発現消失が認められ、MSH6 の発現も消失していた。また、MLH1、PMS2 の発現保持が認められた (写真 1)。

F1CDx で MLH1 遺伝子変異が検出された症例 2 では、MLH1 の発現消失が認められた。しかし、PMS2 は、腫瘍中心部の核における発現消失を認めたが (写真 2)、腫瘍辺縁では発現が保持されていた (写真 3)。また、MSH2、MSH6 の発現保持が認められた (写真 2)。免疫染色所見の結果を表 6 に示した。

考察

症例 1 は、F1CDx にて MSH2 遺伝子に変異が検出されており、MMR タンパクの免疫染色でも腫瘍細胞の核における MSH2 および MSH6 の発現消失が認められた。症例 1 は、CGP 検査にて MSH2 遺伝子のフレームシフト変異が検出されている。この変異により MSH6 は MSH2 と二量体を形成できず、分解されたことにより MSH6 の発現が消失したと考えられる。この結果から、免疫染色においても症例 1 は MMR 機能低下と考えられ、CGP 検査の結果と矛盾しないことが確認された。

症例 2 は、F1CDx にて MLH1 遺伝子に変異が検出されており、MMR タンパクの免疫染色でも腫瘍細胞の核における MLH1 の発現消失が認められた。表 2 に示すように通常では MLH1 遺伝子が MMR 機能低下の原因遺伝子である場合、PMS2 の発現消失を認める。しかし、症例 2 では PMS2 の発現消失は腫瘍中心部に留まり、腫瘍辺縁部では発現が保持されていた。この結果は、腫瘍内不均一性あるいはリバージョン変異による影響が示唆される。腫瘍内不均一性やリバージョン変異は治療抵抗性と関係があるとされており (4) (5)、今回のように免疫染色を用いた追加検査を実施し、病理学的所見を確認することで CGP 検査のみでは把握することが困難な腫瘍の全体像を補完することが可能であると考えられる。

病理診断に広く用いられている免疫染色は、安価で簡便である他、反復検査が可能であるという利点がある。今回の比較により、CGP 検査にて得られた変異について、免疫染色による追加検査を行うことで臨床医への治療効果や治療抵抗性等についての情報を提供することが可能であることが示唆された。

結語

CGP 検査で得られた遺伝子変異の解析結果と免疫染色所見を比較することで、治療方針に直接関与する所見の他に CGP 検査のみでは把握することの出来ない腫瘍の全体像についても臨床医へ情報提供が可能であると考えられる。

文献

1. 日本癌治療学会. がん診療ガイドライン. ゲノム診療Ⅱ dMMR 固形癌
http://www.jSCO-cpg.jp/ (2026 年 1 月 30 日アクセス)

2. 砂田成章、三木義男. DNA 修復経路. 柴田龍弘編. がんゲノムペディア. 第 1 版 東京: 羊土社; 2024. 52-5 頁.

3. Toshihiko I. Case of Comprehensive Genomic Profiling (CGP) examination: Importance of Molecular Pathological Review after CGP examination. Niigata-Ken Koseiren Med j 2025; 34: nkmj925.

4. 新井田厚司. がんの多様性. 柴田龍弘編. がんゲノムペディア. 第 1 版 東京: 羊土社; 2024. 43-5 頁.

5. Edwards,SL, et al. Resistance to therapy caused by intragenic deletion in BRCA2. Nature 2008; 451: 1111-5.

本文で使用した略語一覧

CGP	Comprehensive Genomic profiling
F1CDx	Foundation One® CDx がんゲノムプロファイル
MutL homolog 1	MLH1
MutS homolog 2	MSH2
MutS homolog 6	MSH6
PMS1 homolog2, mismatch repair component	PMS2

英語抄録

Comparison of gene mutations detected by cancer genome profiling examination (CGP) and findings from immunohistochemistry

Department of pathology, Nagaoka Chuo General Hospital; Medical technologist¹⁾, Certified Pathology Technologist²⁾, Certified Pathologist • Certified Molecular Pathologist³⁾, Certified Clinical Pathologist • Certified Quality Control Physician of Gene-related Examination⁴⁾

Anna Yanagita¹⁾²⁾, Tamaki Ohashi¹⁾²⁾, Rei Yamada¹⁾²⁾, Toshihiko Ikarasi³⁾⁴⁾

Objective: After CGP, there is no pathological tissue analysis. In this study, immunohistochemistry was performed on cases in which mismatch repair gene mutations (dMMR) were detected by CGP, and the results between CGP and immunohistochemistry were compared.

Methods: There were two cases in which gene mutations were detected in the MMR genes MSH2 and MLH1 by F1CDx of CGP. Immunohistochemistry was performed by the mismatch repair proteins; MLH1, MSH2, MSH6, and PMS2.

Results: In Case 1, which the mutation in the MSH2 gene was detected by CGP, loss of MSH2 expression was observed in the nuclei of tumor cells, and loss of MSH6 expression was also observed. Both CGP and immunohistochemical analyses were compatible. In Case 2, which the mutation in the MLH1 gene was detected, loss of MLH1 expression was observed in the nuclei of tumor cells, but PMS2 expression was not completely lost; specifically, its expression was retained in some parts of the tumor cell nuclei. The result of these examination did not match in terms of the distribution of genetic mutation in the tissue

Conclusion: While the gene mutations obtained by CGP and the immunohistochemistry findings are consistent, there were some discrepancies between the two examination results. The case of the discrepancy was believed due to the influence of tumor genetic heterogeneity or reversion mutations. It is very useful of perform the additional immunohistochemistry after the CGP for the analysis of overall picture of the tumor.

Keywords: cancer genome profiling examination (CGP), comparison of CGP examination and immunohistochemistry, Immunohistochemistry, Mismatch repair (MMR) gene, Mismatch repair protein, tumor genetic heterogeneity, post-therapeutic reversion

mutation

表 1 MMR 各遺伝子の遺伝子座

	遺伝子座
MLH1	3p22.2
MSH2	2p21 - p16.3
MSH6	2p16.3
PMS2	7p22.1

表 2 MMR タンパクに対する免疫染色パターンと推定される原因遺伝子

		免疫染色での発現			
		MLH1	MSH2	PMS2	MSH6
原因遺伝子	MLH1	－	＋	－	＋
	MSH2	＋	－	＋	－
	PMS2	＋	＋	－	＋
	MSH6	＋	＋	＋	－

表 3 各症例の詳細

	年齢（歳）	性別	診断	検出された遺伝子変異
症例 1	76	男性	前立腺癌	MSH2 A230fs*16
症例 2	76	女性	卵巣癌	MLH1 D63N

表 4 免疫染色の手順

工程	使用試薬	温度（℃）	時間（分）
脱パラフィン	キシレン		
脱キシレン	ドライゾール		
抗原賦活化	抗原賦活化液pH9	121	10
洗浄	PBS		
内因性ペルオキシダーゼ除去	3%過酸化水素水	室温	10
洗浄	PBS		
一次抗体	※	室温	30
洗浄	PBS		
二次抗体	ヒストファインシンプル ステインMAX-PO（MULTI）	室温	30
洗浄	PBS		
発色	DAB 基質キット	室温	10
洗浄	PBS		
後染色	カラッチのヘマトキシリン		
脱水・透徹			
封入			

※ MLH1、MSH2、MSH6、PMS2

表 5 使用抗体一覧

抗体名	免疫動物	クロナリティ	クローン
MLH1	Mouse	Monoclonal	G168-15
MSH2	Mouse	Monoclonal	FE11
MSH6	Mouse	Monoclonal	44
PMS2	Mouse	Monoclonal	A16-4

表 6 免疫染色の結果

	免疫染色での発現			
	MLH1	MSH2	PMS2	MSH6
症例 1	－	＋	＋	－
症例 2	＋	－	±	＋

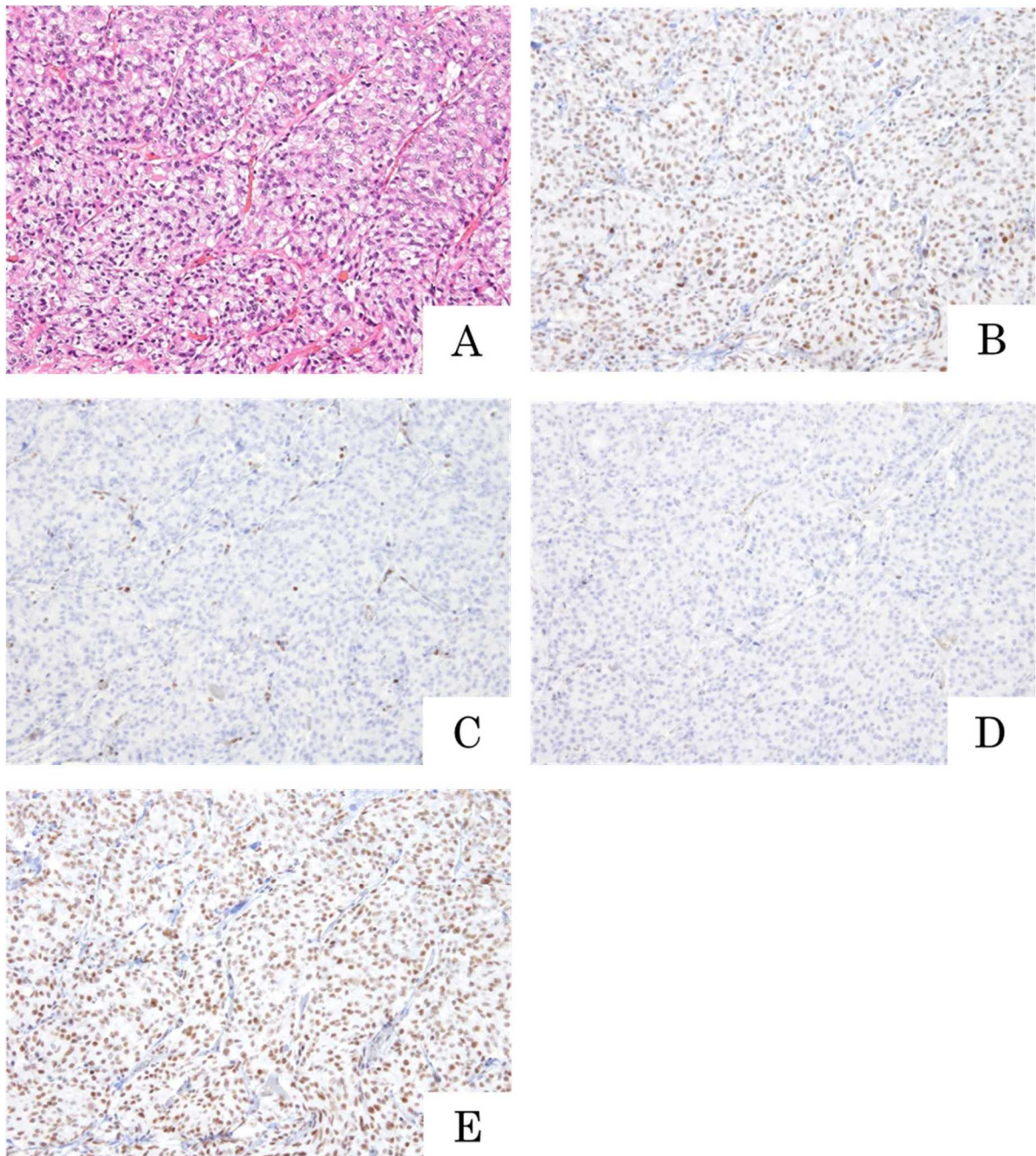


写真1 症例1におけるMMRタンパクの免疫染色

A) HE 染色 対物 10 倍 B) MLH1 対物 10 倍 C) MSH2 対物 10 倍 D) MSH6 対物 10 倍
E) PMS2 対物 10 倍

がんゲノムプロファイリング検査にて検出された遺伝子変異と免疫組織化学染色所見の比較

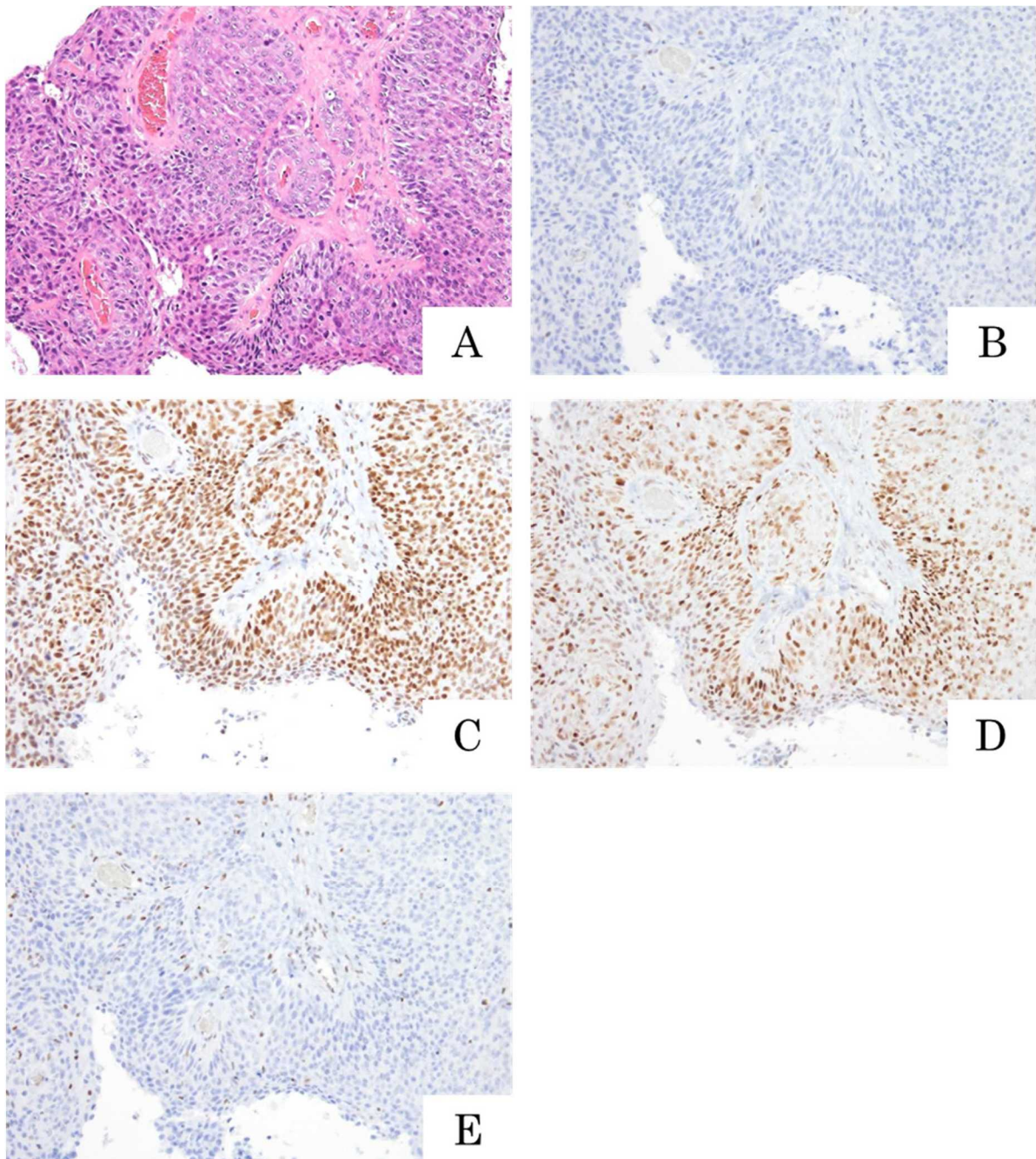


写真 2 症例 2 における MMR タンパクの免疫染色

A) HE 染色 対物 10 倍 B) MLH1 対物 10 倍 C) MSH2 対物 10 倍 D) MSH6 対物 10 倍
E) PMS2 (腫瘍中心部) 対物 10 倍

がんゲノムプロファイリング検査にて検出された遺伝子変異と免疫組織化学染色所見の比較

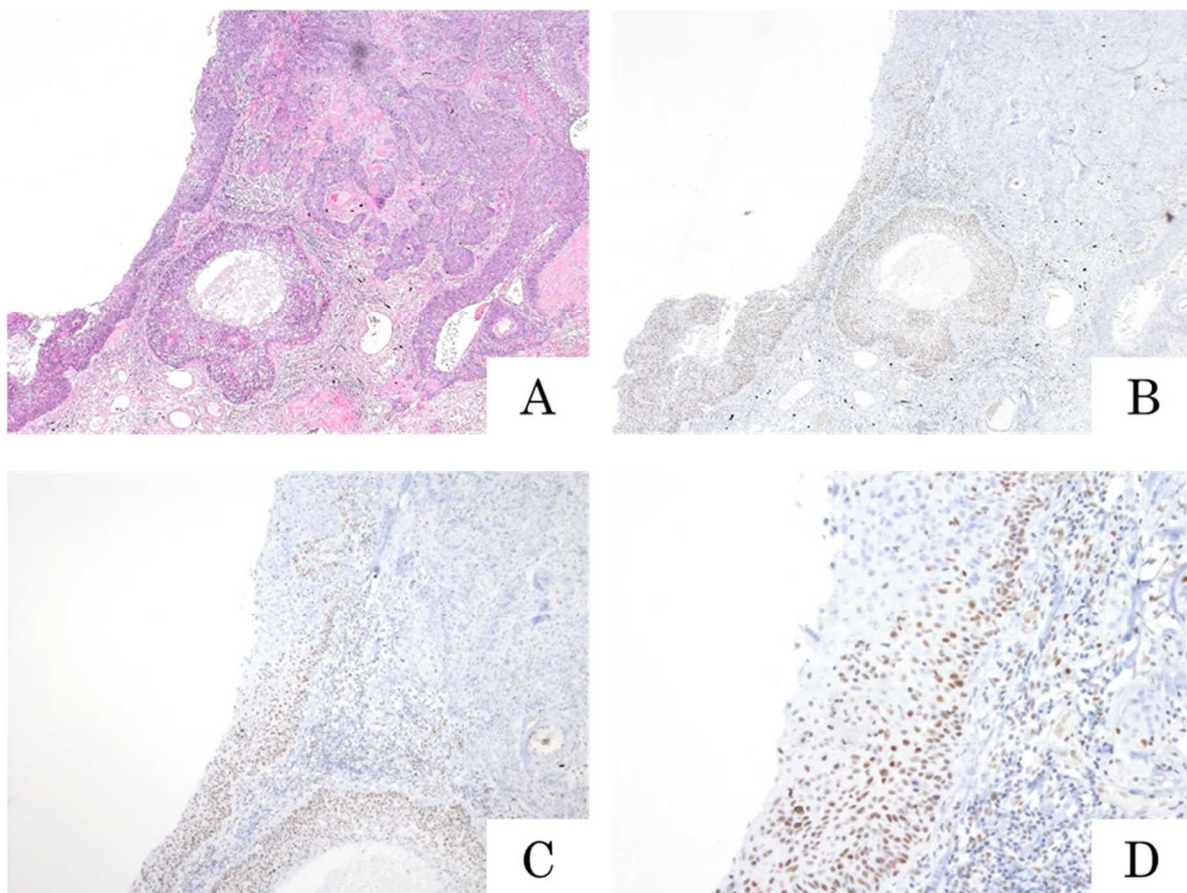


写真3 症例2における腫瘍辺縁部のPMS2の免疫染色

A) HE 染色 対物 2 倍 B) PMS2 対物 2 倍 C) PMS2 対物 4 倍 D) PMS2 対物 10 倍