

## 当院におけるマイクロサテライト不安定性検査施行症例の検討

市立函館病院 消化器内科 ○畑 中 一 映・東 野 真 幸  
 甲 谷 理 紗 子・鈴 木 和 治  
 杉 浦 諒・宮 本 秀 一  
 安孫子 怜 史・木 下 賢 治  
 山 本 義 也・成 瀬 宏 仁  
 同 病理診断科 棟 方 哲

### 【要旨】

マイクロサテライト不安定性 (microsatellite instability : MSI) を高頻度に認める腫瘍 (MSI-High) では、免疫チェックポイント阻害剤 (immune checkpoint inhibitors : ICI) である抗PD-1/PD-L1 抗体薬の効果が期待される。当院における MSI 検査施行状況と MSI-High 症例における治療経過を後方視的に観察した。

【キーワード】：マイクロサテライト不安定性 (MSI)、ミスマッチ修復 (MMR)、胃癌

### 【はじめに】

2018年9月、マイクロサテライト不安定性 (MSI) 検査が、免疫チェックポイント阻害薬 (ICI) pembrolizumab の Companion 診断薬として薬事承認され、pembrolizumab は本邦初の臓器横断型治療薬として使用可能となった。MSI-High の頻度は癌腫によって異なるが、固形癌ステージIVで約5%に認められている<sup>1)</sup>。MSI-High は ICI 使用におけるバイオマーカーの一つであり、MSI 検査の頻度、および ICI 治療の機会が増している。

### 【目的】

当院において MSI 検査を施行した患者の背景・MSI-High 症例の頻度、MSI-High 症例の治療経過を確認する。

### 【対象と方法】

2018年12月から2020年8月まで当院で MSI 検査キット (FALCO) を用いて検査を施行した患者に対し、後方視的に調査を行った。

### 【結果】

調査期間中 MSI 検査を施行した当院症例は86例で、消化器疾患73例、婦人科疾患6例、呼吸器疾患4例、その他3例であった。消化器疾患73症例の検討では、食道癌2例、胃癌11例、十二指腸癌3例、大腸癌38例、胆道癌10例、膵臓癌8例、小腸平滑筋肉腫1例であった。婦人科疾患では子宮頸癌3例、子宮体癌2例、卵巣癌1例。呼吸器疾患では肺小細胞癌4例。乳癌1例、後腹膜脂肪肉腫1例、会陰部 Paget 病1例に検査

が行われていた (表1)。MSI-High を胃癌2例、胆道癌1例に認め、全体では86例中3例 (3.5%) であった。胃癌 MSI-High 症例1では全身化学療法三次治療にて nivolumab を使用した後に胃全摘術を施行したところ、病理組織学に完全奏効 CR が確認された。胃癌 MSI-High 症例2では三次治療で pembrolizumab を使用し、7回投与を行ったが奏効は得られなかった。胆道癌 MSI-High 症例では pembrolizumab 治療を継続中である。

### 【症例1】

患者：60歳代男性

主訴：倦怠感

既往歴：虫垂炎手術

家族歴：特記事項なし

現病歴：X年11月当科紹介初診。上部消化管内視鏡検査で胃体上部から胃角部、小弯から前後壁に広範囲に広がる2型腫瘍を認め、病理組織学的に tub2 の診断、HER2 は陰性であった。造影 CT 検査では、胃癌から肝臓への直接浸潤、傍大動脈リンパ節腫脹を認め cT4bN2M1 (LYM) cStageIVB (胃癌取扱い規約 第15版) と診断した。全身化学療法一次治療 S-1 + oxaliplatin (SOX) を開始したが、3サイクル後の画像評価で progressive disease : PD の判定であった。二次治療 weekly paclitaxel (wPTX) + ramucirumab (RAM) 療法を開始し partial response : PR を認めたが、16サイクル後に原発巣の増大および肝浸潤、腹水出現を認め、PD 判定となった。X+2年5月、三次治療 nivolumab 投与を開始した。nivolumab 5回投与後の画像評価で原発巣

の縮小と腹水の消失を認め治療を継続した。nivolumab 33 回投与後の上部消化管内視鏡検査で胃原発巣は ePR の判定であったが、その後の CT 検査では胃癌再増大を疑う所見を認めた。この時点での根治切除は可能と判断し原発巣切除の方針とした(図1)。X+3 年 8 月、胃全摘、D2 郭清、肝 S2 部分切除、予防的胆嚢摘出術を施行。術後診断は ycT4a (SE) ycN0 ycM0 ycStage II B であった。術後の病理組織学的検査では、胃原発巣部分を含め切除臓器に病理学的に明らかな腫瘍細胞を認めず、薬物治療組織学的効果判定 grade3、臨床的治療効果完全奏効 (CR) と判定した(図2)。術前に測定した MSI 検査では、MSI-High の結果であった。nivolumab 最終投与から 7 ヶ月後に水疱性類天疱瘡を発症し、ステロイドパルス療法を要したが改善し、術後から現在まで 18 ヶ月間無治療無再発で経過している。

### 【症例2】

患者：70 歳代男性

主訴：腹痛

既往歴：40 歳代 B 型劇症肝炎

現病歴：X 年 5 月当科紹介初診。上部消化管内視鏡検査で胃前庭部小弯側に潰瘍を伴う 5 型腫瘍を認め、病理組織学的に poorly differentiated carcinoma の診断であった。免疫染色では MUC5AC、MUC6 陽性で胃原発として矛盾しない所見であった。全身に多発リンパ節転移を認め、左鎖骨上リンパ節生検を行い、病理学的に胃病変と同様の診断であった(図3)。胃癌 cT3N3aM1 (LYM) cStageIVB、HER2 は陰性であり、全身化学療法一次治療 SOX を開始した。SOX 2 サイクル施行後 PD 判定となり、二次治療 nabPTX + RAM を開始した。二次治療開始後、MSI 検査を施行したところ MSI-High であった。nabPTX + RAM 4 サイクル施行後 PD となったため、三次治療で pembrolizumab を開始した。pembrolizumab 4 サイクル後の画像判定で SD 範囲内の増悪であり治療を継続したが、7 サイクル施行後 PD 判定となり、四次治療 biweekly irinotecan を 5 回投与した。治療効果は得られず、病状の進行により初回化学療法開始から 13.5 ヶ月で永眠された。剖検が施行された。

剖検結果：剖検病理診断では、胃幽門部腫瘍は中分化から低分化を示す腺癌であり、大網、後腹膜に浸潤を認めた。転移病巣を腹膜、肺、腎臓、膵臓、副腎、胆嚢、空腸、上行結腸、膀胱、精嚢、縦隔リンパ節に認め、死因は癌死と考えられた。治療開始前の左鎖骨上リンパ節と胃腫瘍の生検組織に対し、ミスマッチ修復 (mismatch repair: MMR) タンパク質免疫染色 (immunohistochemistry: IHC) を MLH1、MSH2、MSH6、PMS2 を用いて施行した。左鎖骨上リンパ節の免疫染色では MLH1 の発現消失を認め MMR deficient (dMMR) であった

が、胃原発巣の免疫染色では発現消失は見られず、MMR proficient (pMMR) であった(図4)。

### 【症例3】

患者：80 歳代女性

主訴：黄疸、体重減少

既往歴：糖尿病、狭心症

現病歴：X 年 1 月当科紹介初診。精査の結果、遠位胆管癌、病理組織学的に adenocarcinoma の診断であった。cT3N0M0 cStage IIA (胆道癌取扱い規約 第6版) であったが、臍浸潤、右肝動脈浸潤、肝内に広範な進展を認め、切除不能と判断した。黄疸に対しメタリックステントを留置して黄疸改善ののち、3 月から全身化学療法一次治療 gemcitabine を開始した。同年 8 月に PD 判定となり、検査で MSI-High を認め二次治療 pembrolizumab を開始した。2021 年 2 月時点で同治療を継続している。

### 【考察】

DNA は複製を行う際に一定の頻度で複製エラーを生じる。相補的でない塩基の組み合わせを修正するミスマッチ修復 (MMR) 機能の欠損により、マイクロサテライトとよばれる DNA の 1~数塩基の繰り返し配列の反復回数に異常を生じ、マイクロサテライト不安定性 (MSI) を引き起こす。MSI による異常が腫瘍抑制、細胞増殖、DNA 修復、アポトーシスなどに関与する遺伝子に集積し、腫瘍発生、増殖に関与すると考えられている<sup>2)</sup>。MMR 機能欠損による高頻度なゲノム変化は新たな抗原 neoantigen を誘導し、それらは非自己として認識され、腫瘍組織における Th1/CTL が活性化される。一方で negative feedback として PD-1 等の免疫チェックポイント分子の発現が誘導されるため、抗 PD-1 / PD-L1 抗体薬の効果が期待される<sup>4)</sup>。

MMR 機能が低下している mismatch repair-deficiency: dMMR を判定する方法として、MSI 検査、MMR タンパク質 (MLH1、MSH2、MSH6、PMS2) に対する免疫染色 (IHC)、次世代シーケンス (next generation sequencing: NGS) 検査がある。2018 年 9 月、本邦において抗 PD-L1 抗体薬 pembrolizumab のコンパニオン診断薬として薬事承認された MSI キット (FALCO) は、1 塩基の繰り返しマーカーを用いた診断薬で、腫瘍細胞から DNA を抽出し 5 ヶ所のマイクロサテライト領域を増幅して評価する<sup>5)</sup>。MMR タンパク質免疫染色検査 (IHC) では、腫瘍細胞における MMR タンパク質 (MLH1、MSH2、MSH6、PMS2) の発現を免疫染色検査によって調べ、4 種類のタンパク質がすべて発現している場合を MMR proficient (pMMR)、1 つ以上のタンパク質発現が消失している場合を MMR deficient (dMMR) と判定する。IHC 検査では

発現消失を認めるタンパク質のパターンから dMMR の責任遺伝子の推定が可能となる。dMMR であっても機能喪失型ミスセンス変異により IHC 検査で染色陽性となったり、腫瘍細胞比率が低い場合 MSI 検査では microsatellite stable : MSS となる症例も想定される。NGS 検査のうち、包括的がんゲノムプロファイル検査 FoundationOne® CDx で評価した MMR 機能欠損は、MSI 検査・IHC 検査と比較し、97%の一致率であったと報告され、MSI 検査と IHC 検査で結果が不一致であった症例も NGS 検査で診断出来る可能性が示されている<sup>6)</sup>。

今回の当院の検査では様々な癌腫に MSI 検査が行われていたが、MSI-High は胃癌で2例、胆道癌で1例に認められたのみで、全体の頻度は3.5%であった。症例1ではnivolumab 治療により組織学的にCRを認め、治療終了18ヵ月後も無治療にてCRを維持している。MSI は免疫チェックポイント阻害剤を使用するうえでのバイオマーカーの1つと考えられるが、当院で経験したnivolumab 治療により長期PR効果が得られた別の胃癌患者2例ではいずれもMSI陰性であった。

症例2はMSI-Highであり、pembrolizumabの効果を期待したが、4サイクル投与後の評価でSD内の増悪、7サイクル投与後にPD判定となった。治療開始前のMSI検査は左鎖骨上リンパ節組織を用いてMSI-Highの結果を得ていた。剖検時に、MMR免疫染色(MLH1、MSH2、MSH6、PMS2)を化学療法開始前の左鎖骨上リンパ節と胃癌病変のそれぞれに施行したところ、左鎖骨上リンパ節転移では免疫染色MLH1で発現消失を認めdMMRであったが、胃癌腫瘍部分ではいずれも免疫染色にてMMRタンパク質発現が確認され、pMMRの判定であった。左鎖骨上リンパ節と胃組織のIHC検査の結果が異なったことから、化学療法開始前の胃病変組織を用いてMSIを確認したところ、MSI陰性の判定であった。本症例では左鎖骨上リンパ節と胃癌原発巣でそれぞれMSI検査とMMR免疫染色(IHC)の結果は一致していた。これらの結果からは、腫瘍細胞の中にMSI-HighとMSI negativeのクローンが存在し、pembrolizumabの効果が得られないクローンが腫瘍増殖をきたした可能性が示唆された。

免疫チェックポイント阻害剤(ICI)は今後も使用頻度が増え、一次治療での使用や、ICI併用療法等により、有害事象が早い段階で現れたり、より重篤になる

ことも想定される。バイオマーカーの開発や検査のタイミングに加え、今回の剖検症例の検討からは、検査部位による判定結果の違いについても認識しておく必要があると考えられた。

### 【おわりに】

観察期間内における当院MSI検査施行症例86例中、MSI-Highは3例(3.5%)であった。胃癌MSI-High症例1例で、免疫チェックポイント阻害薬による治療を行いCRが確認された。1例では検査部位によりMSI検査の異なる結果が確認された。

### 【参考文献】

- 1) Le DT, Durham JN, Smith KN, et al ; Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science* 2017 ; 357 (6349) : 409-413.
- 2) Boland CR, Goel A ; Microsatellite instability in colorectal cancer. *Gastroenterology* 2010 ; 138 : 2073-2087.
- 3) 日本臨床腫瘍学会編, 大腸がん診療における遺伝子関連検査等のガイドライン 第4版 2019 ; 27-41.
- 4) 日本癌治療学会 / 日本臨床腫瘍学会編, 成人・小児進行固形がんにおける臓器横断的ゲノム診療のガイドライン 第2版 2019 ; 7-39.
- 5) Bando H, Okamoto W, Fukui T, et al ; Utility of the quasi-monomorphic variation range in unresectable metastatic colorectal cancer patients. *Cancer Sci* 2018 ; 109 : 3411-3415.
- 6) Vanderwalde A, Spetzler D, Xiao N, et al ; Microsatellite instability status determined by next-generation sequencing and compared with PD-L1 and tumor mutational burden in 11,348 patients. *Cancer Med* 2018 ; 7 : 746-756.

本研究は市立函館病院倫理委員会の承認を得ている(承認番号 迅2020-58)。

本論文内容に関連する著者の利益相反なし

表1 当院におけるMSI検査施行症例

疾患	MSI検査症例数	MSI-High症例数
消化器疾患		
食道癌	2	0
胃癌	11	2
十二指腸癌	3	0
大腸癌	38	0
胆道癌	10	1
膵臓癌	8	0
小腸平滑筋肉腫	1	0
婦人科疾患		
子宮頸癌	3	0
子宮体癌	2	0
卵巣癌	1	0
呼吸器疾患		
肺小細胞癌	4	0
その他		
乳癌	1	0
後腹膜脂肪肉腫	1	0
会陰部Paget病	1	0

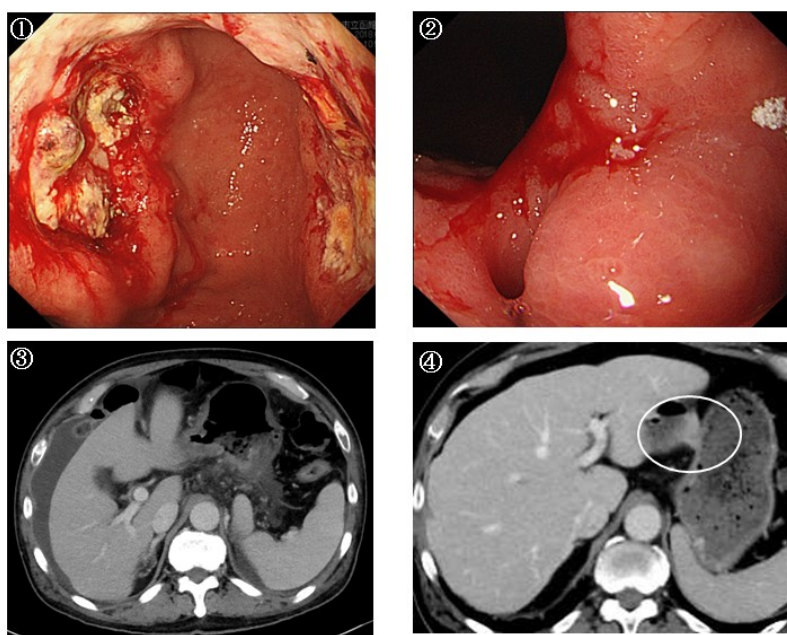


図1 症例1 nivolumab投与前後画像所見

- ① nivolumab 投与前 上部消化管内視鏡所見 広範囲に腫瘍を認める。
- ② nivolumab 33回投与後 上部消化管内視鏡所見 ePRの診断。
- ③ nivolumab 投与前 CT所見 胃癌膵浸潤疑い、腹水出現を認めた。
- ④ nivolumab 33回投与後 CT所見 胃癌の再増大が疑われた。

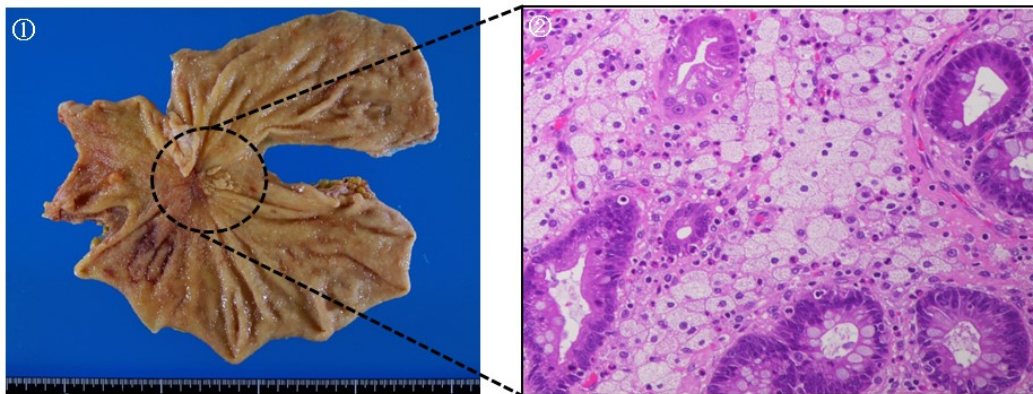


図2 症例1 術後病理標本

- ① 胃全摘術後切除標本
- ② 原発巣部分を含め病理学的に明らかな腫瘍細胞を認めず、薬物治療組織学的効果 grade3と判定した。

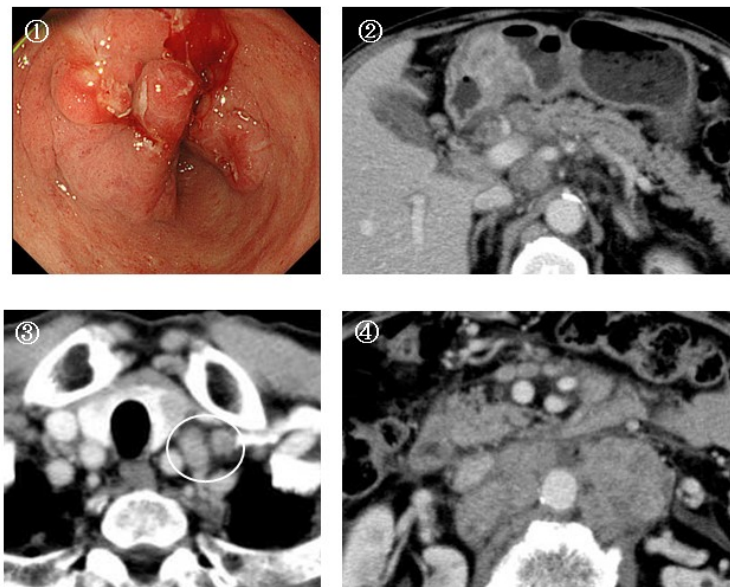


図3 症例2 初診時画像所見

- ① 上部消化管内視鏡検査では、胃前庭部小弯側に5型腫瘍を認めた。
- ② 造影CT検査で胃前庭部壁肥厚、肝門部リンパ節転移を認める。
- ③ 左鎖骨上リンパ節転移。
- ④ 傍大動脈リンパ節転移。

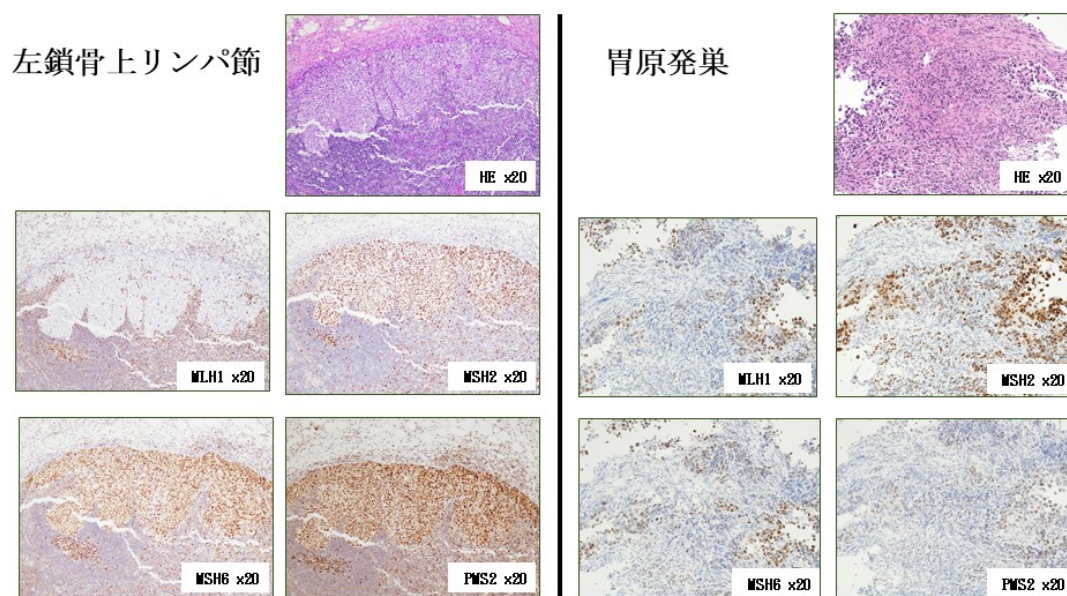


図4 症例2 左鎖骨上リンパ節・胃原発巣 MMRタンパク質免疫染色 (IHC)

左側：左鎖骨上リンパ節 IHCでは MLH1染色で発現消失を認め、dMMRの診断。  
右側：胃原発巣 IHCでは発現の消失は認められず、pMMRの診断。