この電子化された添付文書をよく読んでから使用して下さい。

＊令和７年９月改訂（第２版）
令和７年８月（初版）

体外診断用医薬品

製造販売承認番号：30700EZX00026000

ミスマッチ修復機能欠損検出キット
MLH1 IHC pharmDx「ダコ Omnis」

全般的な注意

（１）本品は、体外診断用医薬品であり、使用目的以外では使用しないこと。
（２）検出結果に基づく臨床診断は、臨床症状や他の検査結果、最新の所見等と併せて、担当医師が総合的に判断すること。
（３）電子化された添付文書に記載された使用方法（反応時間、温度を含む）以外の使用については検証されておらず、誤った染色結果となるおそれがあるため必ず記載内容に従って使用すること。
＊（４）本品の適用機器は、自動染色装置「ダコ Omnis」シリーズである。装置の電子化された添付文書や取扱説明書を良く読んでから使用すること。
（５）本品は、ニボルマブ（遺伝子組換え）の適応を判定するための補助として使用するため、当該薬剤の本邦における最新の電子化された添付文書を参照すること。
（６）免疫組織化学染色は、染色前の組織検体の取扱いが、染色結果に大きく影響する。組織検体スライドの作製から染色前処理、試薬調製、染色、染色結果の判定に至るまで、熟練した者が行うこと。
（７）染色結果の判定に際しては、適切な判定を行える十分な経験を持った判定者が実施すること。

形状・構造等（キットの構成）

構成試薬名	成分	容量
一次抗体	抗ヒト MLH1 マウスモノクローナル抗体（クローン ES05）	12mL×1

別売の構成試薬：一次抗体と別売の構成試薬を組み合わせて使用すること。

構成試薬名 成分	GE101	GV800	GV823	GV821	GV809	GC309
MMR 一次抗体陰性コントロール（マウス） IgG1 マウスモノクローナル抗体	12mL×1					
ブロッキング試薬 過酸化水素	—	22.5mL×8	22.5mL×2	—	—	—
リンカー試薬（マウス） 抗マウスイムノグロブリン・ウサギポリクローナル抗体	—	—	—	22.5mL×1	—	—
リンカー試薬（ウサギ） 抗ウサギイムノグロブリン・マウスモノクローナル抗体	—	—	—	—	22.5mL×1	—
ポリマー試薬 パーオキシダーゼ標識抗マウスイムノグロブリン・ヤギポリクローナル抗体 パーオキシダーゼ標識抗ウサギイムノグロブリン・ヤギポリクローナル抗体	—	22.5mL×8	22.5mL×2	—	—	—
基質緩衝液 過酸化水素、イミダゾール緩衝液	—	26mL×16	26mL×4	—	—	—
発色基質 3、3'-ジアミノベンジジンテトラヒドロクロライド	—	1mL×8	1mL×2	—	—	—
濃縮抗原賦活液 ＊1 pH9 (50x), Tris/EDTA 緩衝液	—	—	—	—	—	68mL×3

＊1　濃縮抗原賦活液は必ず GC309（pH9 (50x)）を使用し、GV800 及び GV823 に含まれる濃縮抗原賦活液（High pH (50x)）は使用しないこと。

使用目的

がん組織中の MLH1 タンパクの検出
（ニボルマブ（遺伝子組換え）の結腸・直腸癌患者への適応を判定するための補助）

測定原理

（１） 検出方法の概要
本品の組織、細胞中の MLH1 タンパクの検出方法は、ホルマリン固定パラフィン包埋した病理組織標本を用いた免疫組織化学的手法を採用している。

（２） 検出原理
組織検体中の MLH1 タンパクに対し、特異的な一次抗体を反応させる。その際、MMR 一次抗体陰性コントロール（マウス）を用いた対照試験を並行して行う。その後、ブロッキング試薬、2 種のリンカー試薬、ポリマー試薬（デキストランポリマーに二次抗体とパーオキシダーゼが結合）を反応させる。これに基質溶液（発色基質と基質緩衝液により調製）を反応させると、ポリマー試薬中のパーオキシダーゼの酵素反応によって、可視産物が生成され抗原部位が褐色に染色される。組織検体の対比染色を行った後、カバーガラスで覆う。結果は光学顕微鏡にて観察する。

（３） 特徴
発色系の酵素として、最も一般的なパーオキシダーゼを使用している。
酵素抗体反応を利用した簡便な免疫組織化学染色法である。

操作上の注意

（１） 本品の構成試薬や使用方法は最適な結果が得られるよう検証されているため、試薬をさらに希釈したり、反応時間や温度を変更したりしないこと。誤った結果となる恐れがある。
（２） 本品は、脱灰処理した組織検体では検証されていないため推奨していない。
（３） ホルマリン固定以外の固定方法は推奨していない。
（４） 組織検体の抗原性の低下により偽陰性が生じる可能性があるため、一度薄切された組織標本スライドは、暗所、2～8℃（推奨）又は 25℃を超えない室内温度にて保存し、2 ヶ月以内に染色すること。
（５） 組織検体が乾かないよう、常に湿潤状態を保つこと。非特異反応の原因となるおそれがある。
（６） 陽性対照組織及び陰性対照組織のスライドを患者組織検体スライドと並行して染色を進行させ、染色操作が適切に行われていることを確認すること。
（７） B 型肝炎ウイルスに感染したヒトの組織や HBs 抗原を含む組織は、パーオキシダーゼで非特異的染色を示すので注意して判定すること。(文献 1)
（８） 一般的にタンパクや基質反応生成物の非免疫的結合により、偽陽性結果が観察される場合がある。偽陽性結果は赤血球による偽パーオキシダーゼ反応やサイトクローム C による内因性パーオキシダーゼ反応によっても起きることがある。(文献 2)

用法・用量（操作方法）

1. 必要な器具及び試薬
≪本品に含まれない必要な試薬等≫
＊（１）ダコ Omnis シリーズ（自動染色装置、Code No. GI100、GI300、GI400）
（２）濃縮洗浄溶液（英語名：Wash Buffer (20×) (Dako Omnis) 、Code No.GC807）
（３）ヘマトキシリン溶液（英語名：Hematoxylin (Dako Omnis) 、Code No.GC808）
（４）Clearify cleaning agent（脱パラフィン処理用、Code No.GC810）
（５）Sulfuric Acid, 0.3M（装置パーツ洗浄剤、Code No.GC203）
（６）試薬調製用精製水
蒸留水や脱イオン水であっても試薬調製に適さない場合があるため、CLSI で指定されている臨床検査試薬用に適した精製水、もしくは同等の品質のものを使用すること。(文献 3)
（７）乾燥機（60℃以下を維持できるもの）
（８）エタノール（無水及び 95%）
（９）キシレン又はキシレン代替品
（１０）明視野顕微鏡 (対物レンズ倍率 4-20 倍)
（１１）カバースリップ
（１２）封入剤（非水溶性の永久標本用封入剤）及び封入関連試薬
（１３）スライドガラス（推奨：スーパーフロストプラススライド）
（１４）陰性対照組織
既知の発現を有する陰性対照組織を検査室で準備し、各染色で実行する。隣接する内部陽性対照の中程度から強い染色強度の核染色と比較して、悪性細胞で目的タンパクの発現の消失が事前に確認された大腸癌組織を使用する。陰性対照組織は患者組織と同じスライド上で染色することを推奨する。
（１５）pH メーター

全ての計測機器は製造元の推奨に従ってメンテナンス及び校正を行うこと。

2. 検体の取扱い
≪組織標本の作製≫
一次抗体および MMR 一次抗体陰性コントロール（マウス）による染色は、ホルマリン固定パラフィン包埋された組織標本を使用する。固定前の虚血時間が 1 時間未満で、10%中性緩衝ホルマリンで 6～48 時間の固定方法が推奨される。その他の固定液は検証されていないため、誤った結果となる可能性がある。組織標本は 3～4mm のブロック片を作成し、検体ブロック片を固定から包埋まで行う。パラフィンの温度は、60℃を超えないように注意する。本電子化された添付文書に記載の作製方法以外の条件は、使用者が検証すること。

ホルマリン固定パラフィン包埋組織標本は 4μm に薄切する。薄切後スライドガラスに載せ、58±2℃、1 時間乾燥させて貼り付ける。抗原性を保つため、組織標本スライドは暗所で、2～8℃（推奨）もしくは 25℃を超えない室内温度で保管し、2 カ月以内に染色すること。組織の完全性と抗原性を確保するため、スライドの保管及び取扱いは、いかなる場合にも 25℃を超えないよう注意すること。

組織標本は、スライドガラスの所定の染色領域内に配置する必要がある。染色領域の寸法はダコ Omnis ユーザーガイドを参照すること。

3. 試薬の調製法、安定性
試薬は最適結果が得られるように至適濃度に調製されているので、抗原賦活液及び洗浄液以外は希釈をしないこと。試薬を装置にセットする前に室内温度に戻す必要はないが、構成試薬が室内温度に戻る十分な時間を考慮し、染色開始前に装置にセットする。
（１）抗原賦活液の調製
濃縮抗原賦活液（Code No. GC309）を試薬調製用精製水で 50 倍希釈し、抗原賦活液とする。
未使用の抗原賦活液は 2～8℃で 1 ヶ月間保存できる。抗原賦活液が混濁した場合は使用せず廃棄する。装置に設置した後は、7 日間以内に使用する。濃縮抗原賦活液は青色に着色している。
（２）洗浄液の調製
濃縮洗浄液（Code No. GC807）を試薬調製用精製水で 20 倍希釈し、洗浄液とする。
未使用の洗浄液は 2～8℃で 1 ヶ月間保存できる。洗浄液が混濁した場合は使用せず廃棄する。
装置に設置した後は、7 日間以内に使用する。
（３）基質溶液の調製
装置で自動調製されるため、そのまま用いる。
（４）その他の試薬
その他の試薬はそのまま用いる。

＊4. 染色操作
本品は、自動染色装置「ダコ Omnis」シリーズを使用して行う。詳しくは装置の取扱説明書を参照すること。

≪検体前処理、染色≫
脱パラフィン処理、抗原賦活処理及び染色の全ての操作工程は装置のソフトウェアに予め設定されている。プロトコル（MMR MLH1 IHC pDx GE079 および MMR NCR Mo GE101）が装置のサーバー上にない場合は、アジレント・テクノロジー株式会社カスタマーサービスに問い合わせること。

一次抗体や MMR 一次抗体陰性コントロール（マウス）の希釈や染色プロトコルの変更は、誤った結果となる可能性がある。また、使用者による組織標本の作製手順の違いにより、結果が無効となる可能性がある。

（１） Dako Link Omnis ワークステーションソフトウェアから、MMR MLH1 IHC pDx GE079 のプロトコルを選択する。（MMR 一次抗体陰性コントロール（マウス）は、MMR NCR Mo GE101 のプロトコルを選択する。）
（２） Dako Link Omnis ワークステーションが選択したプロトコルが表示されたスライドラベルを印刷する設定かどうか確認する。
（３） スライドラベルを印刷して、検体スライドに貼付する。
（４） 検体スライドをスライドラックにセットする。スライドラックには 1~5 枚のスライドをセットできる。
（５） 以下の溶液が入ったバルク液ボトルを装填し、装置に登録する。
・Clearify cleaning agent（Code No. GC810）
・抗原賦活液（Code No. GC309、試薬の調製法を参照）
・洗浄液（Code No. GC807、試薬の調製法を参照）
（６） 以下の構成試薬等のバイアルキャップを開け、試薬ストレージモジュールにセットする。MMR MLH1 IHC pDx GE079 は一次抗体、MMR NCR Mo GE101 は MMR 一次抗体陰性コントロール（マウス）をセットする。
・一次抗体（Code No. GE079）もしくは MMR 一次抗体陰性コントロール（マウス）（Code No. GE101）
・ブロッキング試薬（Code No. GV800, GV823）
・ポリマー試薬（Code No. GV800, GV823）
・基質緩衝液（Code No. GV800, GV823）
・発色基質（Code No. GV800, GV823）
・リンカー試薬（マウス）（Code No. GV821）
・リンカー試薬（ウサギ）（Code No. GV809）
・（オプション）ヘマトキシリン溶液（英語名：Hematoxylin (Dako Omnis) 、Code No.GC808）
・Sulfuric Acid, 0.3M（Code No. GC203）
（７） スライドラックを装置にセットする。
（８） タッチスクリーン上の指示に従い、染色操作を開始するため「Done」をタップする。
（９） 検体スライドの乾燥を避けるため、取り出しステーションが精製水で充填されていることを確認する。

オーバーナイト染色（遅延開始）の場合は、染色操作が完了した朝に、検体スライドをアンロードステーションから取り出すこと。

MMR MLH1 IHC pDx GE079 のプロトコルは、Dako Link Omnis ワークステーションで監視することができる。

≪対比染色≫
ヘマトキシリン溶液（英語名：Hematoxylin (Dako Omnis) 、Code No.GC808）により対比染色を行う。対比染色操作は MMR MLH1 IHC pDx GE079 のプロトコルに含まれているが、ユーザーにより編集可能である。推奨する方法以外はユーザー自身により検証を行うこと。

MMR MLH1 IHC pDx GE079
スライドは、ヘマトキシリン溶液（英語名：Hematoxylin (Dako Omnis) 、Code No.GC808）で 3 分間対比染色される。ヘマトキシリン溶液の反応時間は予めプロトコルに設定されている。スライドを Unload Station から取り出し、封入に進む。

ユーザー自身の検証による方法
選択したプロトコルに対比染色が含まれていない場合は、封入の前にユーザー自身で検証を行った方法で対比染色を行う。

≪封入≫
染色の完了した検体スライドを非水溶性の永久標本用封入剤で封入する。

対比染色、封入剤とその方法、スライドの保管条件など、いくつかの要因により染色された検体スライドの一部の色褪せが生じる可能性がある。色褪せを最小限に抑えるため、染色した検体スライドは暗所で、室内温度（20-25℃）に保管すること。

測定結果の判定法及び判定に係る注意事項

①検出結果の判定法

（１） HE 染色切片により、組織標本が判定対象として許容可能がどうか確認する。

MLH1 IHC pharmDx「ダコ Omnis」及び HE 染色は、標本の同じ FFPE ブロック片から作製した連続切片で実施され、1) 大腸癌の組織学的診断、2) 標本に少なくとも 50 個の生存悪性細胞が含まれること、3) 標本が染色のために適切に固定され調製され、標本の保存状態が良好で染色された領域を判定することを確認する。

（２） MLH1 タンパクの特異的染色は核染色であり、組織標本を 4 から 20 倍の倍率で評価する。組織切片全体を検討すること。

1) 核染色のみを評価対象とし、細胞質染色は除外すること、2) 褐色の DAB 呈色は明確であること、3) 染色は核全体をカバーしていることを確認する。

エッジ効果、非侵襲性因子、壊死領域、明らかな固定アーチファクトのある領域は避けること。また、内部陽性対照（リンパ球、間質細胞又は正常上皮）で核染色がない腫瘍領域は対象外とする。一部の組織で非特異的な細胞質染色が観察されることがあるが、細胞質染色が判定の妨げにならない場合は、検体スライドは許容可能と判断する。妨げになる場合は、再染色を実行すること。

頻繁に MMR タンパクの陽性染色が観察される腫瘍領域因子の、1) リンパ球、間質細胞、上皮細胞などの正常細胞、2) エッジ効果、3) 壊死領域、4) 非侵襲性因子（正常上皮、腺腫）のある領域、5) 明らかな固定アーチファクトの領域は判定の対象外とする。(明らかな固定アーチファクトの領域で判定対象として許容可能な場合は慎重に行うこと。)

（３） 組織標本の MLH1 タンパクの発現状況（保持又は消失）を表 1 の判定基準に従って判定する。

表 1　MLH1 タンパクの発現状況（保持又は消失）の判定基準

判定	判定基準
保持	生存悪性細胞は、隣接する内部陽性対照と少なくとも同程度の全体的な染色強度で、明確な核染色を示す。 局所的染色が存在する場合、 1)複数の腫瘍腺／腫瘍巣で連続しており、2) 内部陽性対照と同程度以上の染色強度であれば、保持と判定する。
消失	生存悪性細胞は、隣接する内部陽性対照では中程度から強い染色強度の核染色に対して、核染色が見られないか不明瞭である。 局所的染色が存在する場合、1) 単一の腫瘍腺／腫瘍巣のみで連続しており、2) 複数の腫瘍腺／腫瘍巣で不連続である。また、3) 内部陽性対照よりも弱い染色強度であれば、消失と判定する。

MMR タンパクの発現状況を評価する際には、内部陽性対照因子も評価する必要がある。核染色を保持する細胞は、隣接する内部陽性対照と少なくとも同程度の全体的な染色強度を示す。核染色を消失した細胞は、隣接する内部陽性対照に対して、核染色が見られないかあいまいである。組織標本の内部陽性対照の染色があいまいで、MLH1 タンパクの発現状況が判定できない場合は、その他の MMR タンパク（PMS2、MSH2、MSH6）も含めまとめて評価する。それでもミスマッチ修復機能の診断状況の判定ができない場合は、あいまいな染色を示す組織標本を再染色する必要がある。

（４） 組織標本の全ての MMR タンパク（MLH1、PMS2、MSH2、MSH6）の発現状況（保持又は消失）が判定された後、ミスマッチ修復機能の診断状況（正常（pMMR）又は欠損（dMMR））を表 2 の定義に従って判定する。

表 2　ミスマッチ修復機能の診断状況（正常又は欠損）の定義

判定	定義
正常（pMMR）	全ての MMR タンパク（MLH1、PMS2、MSH2、MSH6）の発現が保持されている。
欠損（dMMR）	1 以上の MMR タンパク（MLH1、PMS2、MSH2、MSH6）の発現が消失している。

PMS2 IHC pharmDx「ダコ Omnis」（製造販売承認番号：30700EZX00027000）

MSH2 IHC pharmDx「ダコ Omnis」（製造販売承認番号：30700EZX00025000）

MSH6 IHC pharmDx「ダコ Omnis」（製造販売承認番号：30700EZX00028000）

各染色を実施した際、下記に示す順序で染色結果を評価すること。免疫組織化学染色的手法において、染色が認められないことは、組織、細胞中に抗原が存在しないことを必ずしも意味しておらず、検出されないことを示す。

■HE 染色した組織検体スライドの染色性

HE 染色した患者組織検体スライドの染色性を最初に評価して、組織検体の組織構造及び保存状態を確認する。HE 染色した組織検体スライドは、一次抗体及び一次抗体陰性コントロールで染色された組織検体の評価において、再度確認されることがある。

MMR タンパクの一次抗体（MLH1、PMS2、MSH2、MSH6）による染色には、HE 染色と同ブロックから作製された連続切片に対して実施すること。組織検体は形態が保たれた保存状態のよいものであり、大腸癌で少なくとも 50 個の生存悪性細胞が含まれることを確認する。

■陽性対照組織の染色性

次に、一次抗体による陽性対照組織の染色性を確認する。患者組織検体には内部陽性対照として機能する陽性の非悪性因子が含まれ、別に陽性対照組織を準備する必要はない。稀に、組織検体の悪性因子及び非悪性因子の両方でタンパク発現が消失している場合があり、適切な操作によっても染色は観察されない。組織検体の非悪性因子でタンパク発現が完全に消失している場合、陰性対照組織の内容陽性対照を確認する。ここでは、組織検体や試薬の機能の適格性を確認する目的で使用されるため、組織検体の判定の補助には使用しないこと。

一次抗体による染色では、患者組織検体のリンパ球、間質細胞又は正常上皮は中程度から強い染色強度の核染色を呈する。組織検体の非悪性因子で局所的にタンパク発現が消失している場合、非悪性因子で核染色を呈する領域で染色操作の適格性を確認する。組織検体の悪性因子及び非悪性因子の両方でタンパク発現が消失している場合は、陰性対照組織の内部陽性対照により確認する。

内部陽性対照で所定の結果が得られない場合、同時に染色した患者組織検体は評価に適さない。

■陰性対照組織の染色性

一次抗体による標的抗原に対する特異性を確認する。陰性対照組織は、MLH1 タンパクの発現の消失が事前に確認された大腸癌組織を用いる。

一次抗体による染色では、腫瘍領域の内部陽性対照（リンパ球、間質細胞又は正常上皮）が中程度から強い核染色を呈するのに対し、悪性腫瘍細胞で核染色は認められないか、弱い核染色を呈する。所定の結果が得られない場合、同時に染色した患者組織検体は評価に適さない。MMR 一次抗体陰性コントロール（マウス）による染色（オプション）では、悪性腫瘍細胞で核染色は認められないか、弱い核染色を呈する。

■MMR 一次抗体陰性コントロール（マウス）で染色した患者組織検体スライドの染色性

抗原部位での特異的染色の解釈に利用する。

MMR 一次抗体陰性コントロール（マウス）による染色では、悪性腫瘍細胞で核染色は認められないか、弱い核染色を呈する。弱い核染色が観察される場合は一次抗体で染色した組織検体スライドの染色性の判定の基準となり、MMR 一次抗体陰性コントロール（マウス）と同程度以下の染色強度の染色は無視される。中程度から強い核染色が観察される場合は、同時に染色した一次抗体で染色した組織検体は評価に適さず、再検査を実施する。

■一次抗体で染色した患者組織検体スライドの染色性

一次抗体で染色した患者組織検体を評価し、MLH1 タンパクの発現状況を判定する。染色結果判定マニュアルも併せて参照すること。

全ての悪性腫瘍細胞を評価すること。陽性染色強度は、MMR 一次抗体陰性コントロール（マウス）で染色した患者組織検体スライドの染色性を基準として評価する。内部陽性対照で核染色が認められない腫瘍領域は対象外とすること。

稀に、組織検体の悪性因子及び非悪性因子の両方でタンパク発現が消失している場合があり、適切な操作によっても染色は観察されない。この場合は、陰性対照組織の内容陽性対照により染色操作の適格性が確認されれば、患者組織検体スライドの評価が可能である。

②判定上の注意

（１） パラフィン残渣により偽陰性結果が観察される場合がある。

（２） 過剰、或いは不完全な対比染色（核染色）は、染色結果の適切な判定を損なうおそれがあるので注意すること。

臨床的意義

ミスマッチ修復機能（MMR）は、正常な増殖細胞が DNA 複製中に起こる変異を修復する機能で、4 種の MMR タンパク（MLH1、PMS2、MSH2、MSH6）のいずれかの消失により、MMR 欠損（dMMR）となり、変異率の増加、腫瘍形成の促進、ネオアンチゲンの生成に至る。dMMR の腫瘍は、ネオアンチゲンや免疫細胞の動員の増加により、MMR 正常（pMMR）の腫瘍よりも免疫療法に反応しやすい可能性がある。（文献 4,5）

CHECKMATE-8HW の成績

MLH1 IHC pharmDx「ダコ Omnis」、PMS2 IHC pharmDx「ダコ Omnis」、MSH2 IHC pharmDx「ダコ Omnis」、MSH6 IHC pharmDx「ダコ Omnis」のニボルマブ（遺伝子組換え）とイピリムマブ（遺伝子組換え）の併用療法の対象となる dMMR 大腸癌患者を特定する臨床性能は、実施医療機関で施設判定に使用されたアッセイ（CTA）と MLH1 IHC pharmDx「ダコ Omnis」、PMS2 IHC pharmDx「ダコ Omnis」、MSH2 IHC pharmDx「ダコ Omnis」、MSH6 IHC pharmDx「ダコ Omnis」のブリッジング試験を含む CHECKMATE-8HW（国際共同第Ⅲ相試験）において確認された。CHECKMATE-8HW は、dMMR 又は MSI-H の治癒切除不能な進行・再発の大腸がんの治療法として、ニボルマブ単独療法、ニボルマブとイピリムマブの併用療法又は標準化学療法を評価する多施設共同無作為化非盲検 3 群第 III 相試験であった。ブリッジング試験では、一次治療においてニボルマブ（遺伝子組換え）とイピリムマブ（遺伝子組換え）の併用療法の対象となる大腸癌患者の dMMR を特定するコンパニオン診断薬としての臨床的有用性が確認された。

CHECKMATE-8HW の患者登録は実施医療機関で施設判定に使用されたアッセイ（CTA）による dMMR 又は MSI-H の確認に基づいて行われ、無作為化された。CHECKMATE-8HW（国際共同第Ⅲ相試験）の登録患者検体が MLH1 IHC pharmDx「ダコ Omnis」、PMS2 IHC pharmDx「ダコ Omnis」、MSH2 IHC pharmDx「ダコ Omnis」、MSH6 IHC pharmDx「ダコ Omnis」により検査された。主要評価項目は、一次治療においてニボルマブとイピリムマブの併用療法と標準化学療法の盲検独立中央判定（BICR）に基づく無増悪生存期間（PFS）の比較であった。

CHECKMATE-8HW では合計 839 名の被験者が無作為化され、CTA によって dMMR 又は MSI-H と判定された合計 301 名の被験者が、ニボルマブとイピリムマブの併用療法群（200 名）又は標準化学療法群（101 名）に無作為に割り付けされた。

MLH1 IHC pharmDx「ダコ Omnis」、PMS2 IHC pharmDx「ダコ Omnis」、MSH2 IHC pharmDx「ダコ Omnis」、MSH6 IHC pharmDx「ダコ Omnis」による dMMR の結果と CTA による dMMR 又は MSI-H の結果の一致率は表 3 のとおりとなった。

表 3　MLH1 IHC pharmDx「ダコ Omnis」、PMS2 IHC pharmDx「ダコ Omnis」、MSH2 IHC pharmDx「ダコ Omnis」、MSH6 IHC pharmDx「ダコ Omnis」と CTA の一致率

	一致率	95%信頼区間
陽性一致率[a]	85.2%	82.5-87.5%
陰性一致率[b]	97.5%	94.4-98.9%

a：CHECKMATE-8HW の登録患者検体（n/N=662/777）、b：pMMS/MSS の大腸癌検体（n/N=199/204）

CHECKMATE-8HW（国際共同第Ⅲ相試験）におけるニボルマブ（遺伝子組換え）とイピリムマブ（遺伝子組換え）の併用療法の有効性結果は、MLH1 IHC pharmDx「ダコ Omnis」、PMS2 IHC pharmDx「ダコ Omnis」、MSH2 IHC pharmDx「ダコ Omnis」、MSH6 IHC pharmDx「ダコ Omnis」により dMMR と判定された患者において、標準化学療法に対して BICR による PFS の統計的に有意かつ臨床的に意味のある改善を示した。これらの結果は、CTA によって dMMR 又は MSI-H と判定された結果と一貫している（表 4）。

以上より、MLH1 IHC pharmDx「ダコ Omnis」、PMS2 IHC pharmDx「ダコ Omnis」、MSH2 IHC pharmDx「ダコ Omnis」、MSH6 IHC pharmDx「ダコ Omnis」がミスマッチ修復機能検出キットとしてニボルマブ（遺伝子組換え）の結腸、直腸癌患者への適応の判定を補助する目的に対して、臨床的に有用であることが示された。

表 4　ニボルマブ（遺伝子組換え）とイピリムマブ（遺伝子組換え）の併用療法の有効性結果（CHECKMATE-8HW）

	MLH1 IHC pharmDx「ダコ Omnis」、PMS2 IHC pharmDx「ダコ Omnis」、MSH2 IHC pharmDx「ダコ Omnis」、MSH6 IHC pharmDx「ダコ Omnis」の結果に基づく有効性		CTA の結果に基づく有効性	
	ニボルマブ（遺伝子組換え）とイピリムマブ（遺伝子組換え）の併用療法 (N=163)	標準化学療法 (N=82)	ニボルマブ（遺伝子組換え）とイピリムマブ（遺伝子組換え）の併用療法 (N=200)	標準化学療法 (N=101)
PFS イベント数, n (%)	47 (28.8)	50 (61.0)	72 (36.0)	62 (61.4)
中間値 [月][a] (95%信頼区間)	NR (38.44, NA)	5.85 (4.40, 7.79)	NR (34.30, NA)	6.21 (4.70, 9.00)
ハザード比[b] (95%信頼区間)	0.22 (0.14, 0.34)		0.32 (0.22, 0.45)	

a: Kaplamn-Meier 推定値
b: 層別 Cox 比例ハザードモデルによる標準化学療法との比較
NR:Not Reached, NA:Not applied

性能

「用法・用量（操作方法）」欄の操作方法により、感度試験、正確性試験及び同時再現性試験を行い、「測定結果の判定法及び判定に係る注意事項」の判定基準に従って、MLH1 タンパク発現を判定した場合、下記の規格に適合する。

■ 感度試験

目的タンパク発現保持（Intact）の大腸癌組織検体を一次抗体（MLH1）で染色する場合、内部陽性対照（良性又は正常な上皮細胞、リンパ球、間質細胞）の核染色は染色強度≧1.125 で、生存腫瘍細胞の核染色は染色強度≧1.5 で腫瘍領域中の内部陽性対照の染色強度以上である。

■ 正確性試験

目的タンパク発現保持（Intact）の大腸癌組織検体を一次抗体（MLH1）で染色する場合、内部陽性対照（良性又は正常な上皮細胞、リンパ球、間質細胞）の核染色は染色強度≧1.125 で、生存腫瘍細胞の核染色は染色強度≧1.5 で腫瘍領域中の内部陽性対照の染色強度以上である。

目的タンパク発現消失（Loss）の大腸癌組織検体を一次抗体（MLH1）で染色する場合、内部陽性対照（良性又は正常な上皮細胞、リンパ球、間質細胞）の核染色は染色強度≧1.125 で、生存腫瘍細胞の核染色は観察されない。ただし、腫瘍細胞の局所的な染色は、染色強度≦1 かつ腫瘍上皮腺又は腫瘍巣が 1 以下でのみ連続的である場合は許容される。

■ 同時再現性試験

目的タンパク発現保持（Intact）の大腸癌組織検体を一次抗体（MLH1）で 3 回同時に染色する場合、内部陽性対照（良性又は正常な上皮細胞、リンパ球、間質細胞）の核染色は染色強度≧1.125 で、生存腫瘍細胞の核染色は染色強度≧1.5 で腫瘍領域中の内部陽性対照の染色強度以上である。

使用上又は取扱い上の注意

①取扱い上の注意

（1） 一次抗体、一次抗体陰性コントロール、リンカー試薬は動物由来の物質が含まれている。生物由来製品として適切に取り扱うこと。

（2） 試薬が目や皮膚に直接接触することを避けることため、適切な保護具を着用すること。万一触れた場合は、多量の水で洗い流すこと。

②使用上の注意

（1） 発色基質、リンカー試薬（ウサギ）はロット或いはボトルによって、溶液の色の濃さ及び色調に違いが見られるが、発色の性能に影響はない。

（2） 一次抗体などの試薬は、使用していない時は、フリップトップキャップを閉めて、2～8℃で保存する。使用期限を過ぎた試薬は使用しないこと。外箱に記載された有効期限は、未開封の場合だけではなく、開封済み（使用中）にも有効である。

③廃棄上の注意

（1） 組織検体に接触した器具・試薬及び試薬容器等は感染の危険性があるものとし、適切に処理すること。また、これらを廃棄する場合には、廃棄物処理及び清掃に関する法律等の規定に従って処理すること。

（2） ブロッキング試薬、一次抗体、一次抗体陰性コントロール、リンカー試薬は 0.1%未満のアジ化ナトリウムを含んでいる。アジ化ナトリウムは鉛や銅と反応して起爆性の高い金属化合物を生成するため、廃棄の際は多量の水で希釈して廃棄すること。

（3） 未使用の試薬を廃棄する場合には、国内、地域の法律等の規定に従って処理すること。

貯蔵方法、有効期間

貯蔵方法：2～8℃で保存
有効期間（使用期限は外箱に記載）：
一次抗体：24 ヶ月
MMR 一次抗体陰性コントロール（マウス）：24 ヶ月
ブロッキング試薬：12 ヶ月
ポリマー試薬：12 ヶ月
基質緩衝液：12 ヶ月
発色基質：12 ヶ月
リンカー試薬（マウス）：12 ヶ月
リンカー試薬（ウサギ）：12 ヶ月
濃縮抗原賦活液：12 ヶ月

包装単位

	Code No.	包装単位
MLH1 IHC pharmDx「ダコ Omnis」 ・一次抗体	GE079	60 テスト (12 mL x 1)

一次抗体と別売の構成試薬を組み合わせて使用する。

別売	Code No.	包装単位
MLH1 IHC pharmDx「ダコ Omnis」 ・MMR 一次抗体陰性コントロール（マウス）	GE101	60 テスト (12 mL x 1)
MLH1 IHC pharmDx「ダコ Omnis」	GV800	600 テスト
・ブロッキング試薬 ・ポリマー試薬 ・基質緩衝液 ・発色基質	GV823	150 テスト
MLH1 IHC pharmDx「ダコ Omnis」 ・リンカー試薬（マウス）	GV821	75 テスト (22.5mL×1)
MLH1 IHC pharmDx「ダコ Omnis」 ・リンカー試薬（ウサギ）	GV809	75 テスト (22.5mL×1)
MLH1 IHC pharmDx「ダコ Omnis」 ・濃縮抗原賦活液	GC309	225 テスト (68 mL×3)

その他の関連製品

別売	Code No.	包装単位
MSH2 IHC pharmDx「ダコ Omnis」 ・一次抗体	GE085	60 テスト (12 mL x 1)
MSH6 IHC pharmDx「ダコ Omnis」 ・一次抗体	GE086	60 テスト (12 mL x 1)
PMS2 IHC pharmDx「ダコ Omnis」 ・一次抗体	GE087	60 テスト (12 mL x 1)
MSH6 IHC pharmDx「ダコ Omnis」 PMS2 IHC pharmDx「ダコ Omnis」 ・MMR 一次抗体陰性コントロール（ウサギ）	GE102	60 テスト (12 mL x 1)

主要文献

（1） Masao Omata; et al. Nonimmunologic Binding of Horseradish Peroxidase to Hepatitis B Surface Antigen、 Am J Clin Pathol 1980; 73: 626

（2） Hewitt S. et al., Quality Assurance for Desigin Control and Implementation of Immunohistochemistry Assays, CLSI Document, 2nd Edition . I/LA28-A2 2011, 31(4).

（3） Miller, W.G.; Gibbs, E.L.; Jay, D.W.; et al. Preparation and testing of reagent water in the clinical laboratory: Approved guidline_fourth edition. CLSI document、GP40-A4-AMD, Vol. 26; Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012

（4） Olave, M.C.; Graham, R.P. Mismatch repair deficiency: The what, how and why it is important. Genes Chromosomes Cancer. 2022, 61 (6) 314-321.

（5） Mulet-Margalef, M.; et al. Challenges and Therapeutic Opportunities in the dMMR/MSI-H Colorectal Kandscape. Cancers 2023, 15(4).

問い合わせ先

アジレント・テクノロジー株式会社　カスタマーサポート
〒108-0023
東京都港区芝浦四丁目 16 番 36 号住友芝浦ビル
TEL：03-5232-9968

製造販売業者の名称及び住所

アジレント・テクノロジー株式会社
〒108-0023
東京都港区芝浦四丁目 16 番 36 号住友芝浦ビル
TEL：03-5232-9970　　FAX：03-5232-9969