

## Digital PCR を用いた悪性リンパ腫の遺伝子変異検出法確立と導入効果

◎福田 真恵<sup>1)</sup>、大山 幸永<sup>1)</sup>、大野 彩<sup>1)</sup>、姫野 真由子<sup>1)</sup>、白石 祐美<sup>1)</sup>、丸岡 隼人<sup>1)</sup>  
独立行政法人 神戸市民病院機構 神戸市立医療センター 中央市民病院<sup>1)</sup>

【はじめに】我々は、これまで悪性リンパ腫の遺伝子変異に対して磁気ビーズを用いた細胞分離後に DNA 抽出、ダイレクトシーケンス(Seq 法)を実施していた。手技が煩雑な上に時間を要し、高コストであった。上記問題を解決すべく Digital PCR(dPCR)法を確立し、得た導入効果について今回報告する。【対象】検討：2012 年 4 月～2020 年 5 月において *MYD88* L265P、*RHOA* G17V、*BRAF* V600E の変異解析済検体(32 例、13 例、1 例)の末梢血、骨髓血、または組織検体を対象とした。陰性コントロール(NC)は健常人末梢血を用いた。導入後：2019 年 7 月～2021 年 11 月に *MYD88* L265P、*RHOA* G17V、*BRAF* V600E(22 例、9 例、2 例)を測定・解析した。【方法】試薬は Thermo Fisher Scientific のデザイン済みもしくはカスタマイズ primer および Taqman probe を発注し、TaqMan SNP Genotyping Assays(Thermo Fisher Scientific)を使用した。機器は QuantStudio3D DigitalPCR system(Thermo Fisher Scientific)を使用した。各遺伝子変異を有する患者検体から抽出した DNA を健常人末梢血 DNA で希釈し、*MYD88* L265P、*RHOA* G17V は変異 DNA 比率が

5%～0.05%のサンプルに希釈後、検出感度を算出した。*BRAF* V600E は変異 DNA 比率が 0.8%～0.05%のサンプルに希釈後、検出感度を算出した。NC は同条件で測定した。また Seq 法との比較を行った。【結果】3 項目の dPCR による検出感度は 0.1%であり、Seq 法で陽性であった変異解析済 21 検体との一致率は 100%であった。Seq 法と乖離を認めた 5 検体は変異比率が 10%未満であった。Seq 法は所要時間が約 5 時間程度であったが 3 時間半に短縮され、ランニングコストは 1 件あたり約 1000 円安価となった。更に診断に苦慮する症例において dPCR 法における *RHOA* G17V 検出により確定診断に至る例を経験した。【結語】Digital PCR を用いた *MYD88* L265P、*RHOA* G17V、*BRAF* V600E 変異検出法の導入により手技が簡略化し、短時間かつ低コスト、初発時に変異比率の低い患者検体においても高感度に検出が可能となった。  
連絡先 078-302-4321(内線 3540)