

FFPE 検体における *MYD88* L265P 変異の改良 digital PCR 解析

◎國宗 勇希¹⁾、岡山 直子¹⁾、中原 由紀子¹⁾、森重 彰博¹⁾、児玉 雅季¹⁾、西岡 光昭¹⁾
山口大学医学部附属病院¹⁾

【背景・目的】

MYD88 L265P は、原発性マクログロブリン血症(WM)において 90%前後に同定される変異である。我々は、WM 疑い患者の骨髄穿刺液検体を用いた変異解析を行い、診断に寄与してきた。しかし、骨髄穿刺液を用いた方法は FFPE 検体を用いた際には適応できなかった。今回は、FFPE 検体を用いた変異解析を行うための検討を行い、その有用性について考察した。

【対象・方法】

当院及び当院関連病院より提出された WM 疑いの骨髄およびリンパ節の FFPE 検体 3 例、非 WM リンパ節 FFPE 検体 1 例(濾胞性 B 細胞性リンパ腫患者検体)を対象とした。

QIAamp®DNA FFPE Tissue Kit(QIAGEN 社)を用いて DNA 抽出後、Quant Studio 3D Digital PCR System を用いて digital PCR(dPCR)法による変異解析を行った。dPCR 試薬として、メーカー推奨である Quant Studio 3D Digital PCR Master Mix v2(QS3D:骨髄穿刺液検体解析時に使用)もしくは SNP 解析推奨の TaqPath™ Pro Amp Master Mix(TaqPath)を使用し、比

較を行った。プライマープローブとしては Taq Man Probe セットを使用した。(Thermo fisher Scientific)

【結果】

①TaqPath は QS3D に比べて変異アレルに対する蛍光強度が増強し、リファレンスとの差が明確になった。

②dPCR 法の結果、変異アレルコピー数/総コピー数(%)は、WM 疑い検体において 7.6、24.9、29.1 であった。非 WM 検体において 0.8 であり陰性と判定した。

【考察】

①SNP 解析推奨の TaqPath を dPCR に応用したところ、変異アレルに対する感度が上昇し、容易に閾値決定が行えるようになった。

②変異検出感度 10%であるサンガーシーケンス法では変異を検出できず判定に苦慮した検体の値は 7.6%を示した。

【結語】

SNP 解析推奨の TaqPath を用いることにより、FFPE 検体から dPCR 法による *MYD88* L265P 変異解析が可能となり、WM の確定診断に寄与することができた。(0836-85-3753)