

遺伝子検査

◎水田 駿平¹⁾兵庫県立尼崎総合医療センター¹⁾

造血器腫瘍において遺伝子検査は診断、病型分類、病期分類、治療反応性予測、治療効果の判定など様々な目的で利用される。その手法については染色体分染法や FISH といった比較的広い領域を対象とした染色体・遺伝子座レベルの検査から、PCR による定性検査、リアルタイム PCR やデジタル PCR による半定量及び定量的検査、塩基配列を解析する DNA シークエンシングのように狭い範囲を対象とした検査、次世代シークエンシングを用いた網羅的検査があり、これらを目的に応じて使い分けることとなる。しかし、遺伝子異常の性質や感度、検査方法の原理について考慮しておかなければ真実とは異なる解釈をしてしまう可能性がある。本シンポジウムでは遺伝子検査の結果解釈や、目的に応じた適切な検査法の選択方法について、自験例を中心に紹介する。

①染色体・遺伝子検査の結果の解離について

G-band 法をはじめとする染色体検査で正常核型と判定された症例であっても、別の方法により染色体転座が検出される症例がある。この結果の解離は、染色体分染法が形態学的な検査であるために微小な染色体異常を検出できない場合があるほかに、非腫瘍細胞の分裂が盛んである場合に認められる。また逆に、典型的な染色体異常があっても切断点の位置が非典型的である場合や、近傍遺伝子に切断点がある場合、一般的に用いられる primer による PCR では偽陰性となる場合もある。

②遺伝子変異解析の感度と解析法の工夫について

塩基配列の variant については、パターンが限られている *JAK2*, *MYD88*, *RHOA*, *NPM1*, *FLT3-ITD* などを除き、DNA シークエンシングにより同定されることが一般的である。しかし、変異比率>20%でなければ DNA シークエンシングでの変異の同定は困難な場合がある。遺伝子は一細胞につき 2 コピー存在するが、変異は一方にのみ存在することが大半である。すなわち、サンプル中の腫瘍細胞比率が 40%程度存在しなければ変異の同定が困難であることを意味するため、場合によっては腫瘍細胞を濃縮して検出感度を高めることが重要となる。一方で腫瘍細胞での発現量が正常細胞より高い遺伝子中の変異を標的とした場合、cDNA を用いることで相対的に変異テンプレートを濃縮できるので、高感度な解析が可能となる場合もある。いずれにせよサンプル中の腫瘍細胞比率を考慮した解析方法を採用する必要がある。

③治療効果判定マーカーの選択について

白血病では腫瘍細胞で検出された遺伝子異常を直接増幅したり、遺伝子発現の程度を定量することで、治療後の残存病変 (MRD) の有無を判定する。高頻度に認められるキメラ遺伝子や *NPM1* 変異等が検出されない場合は、他の遺伝子異常を MRD マーカーとして採用することがあるが、遺伝子異常の種類によっては分化・成熟した細胞でも異常を有する場合がある。この場合は MRD マーカーとして採用することは不可能である。また、治療の前後で遺伝子異常の種類が変化する可能性がある。*WT1* 等の遺伝子発現異常をマーカーとする場合は、正常細胞における発現量と症例ごとの過剰発現の程度を把握しておく必要がある。

連絡先：06-6480-7000