

## びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫における MCD/N1 サブタイプ迅速検出法の開発

*CD79B/MYD88/NOTCH1* 遺伝子変異のマルチプレックスアレル特異的 PCR 法による検出

◎木曾 那由<sup>1)</sup>、國宗 勇希<sup>2)</sup>、中原 由紀子<sup>2)</sup>、岡山 直子<sup>2)</sup>、児玉 雅季<sup>2)</sup>、藤井 智大<sup>2)</sup>、西本 凌河<sup>2)</sup>、西岡 光昭<sup>2)</sup>  
山口大学大学院<sup>1)</sup>、山口大学医学部附属病院<sup>2)</sup>

**背景・目的:** 全リンパ腫のうち、びまん性大細胞型 B リンパ腫(diffuse large B-cell lymphoma:DLBCL)は 30-40%を占め、最も発生頻度が高い。遺伝子変異に基づいて複数のサブタイプに分類される。主に *MYD88*、*CD79B* 遺伝子に変異を持つ MCD、*NOTCH1* 遺伝子に変異を持つ N1 サブタイプ(LymphGen 分類)は予後不良群として同定されている。しかし、効率的な検査法は存在しない。本研究はこの 3 遺伝子の主要変異を同時に検出可能なマルチプレックスアレル特異的 PCR (MAS-PCR)法の開発を目指し検証を行った。

**方法:** AS-PCR の基礎的研究として *CD79B* Y196 (変異 6 種)、*MYD88* L265P、*NOTCH1* P2514fs 遺伝子変異を組み込んだプラスミド DNA を用いて変異検出感度および特異性の検証を行った。確認試験として本院で DLBCL と診断された症例(ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 標本 3 例:変異なし/*CD79B* および *MYD88* 陽性/*MYD88* のみ陽性)を用いた。DNA 抽出には Maxwell® RSC FFPE Plus DNA Kit (Promega) を用いた。比較対象方法としてダイレクトシーケンス法(3500 Series Genetic Analyzers)を用いた。

**結果:** 最適な AS-PCR プライマー設計により PCR 産物サイズ(*CD79B*:133~134bp、*MYD88*: 100bp、*NOTCH1*: 67bp)、温度:64℃、サイクル数:30 を条件として設定した。MAS-PCR 法はプラスミド DNA を用いた検討において同時検出可能であり、かつ 5%の変異割合まで検出可能であった。対してそれぞれ別々に検出を行ったシーケンス法は 20%が安定的に検出可能な限界値であった。患者検体 3 例の FFPE 抽出 DNA においても MAS-PCR 法により同時に変異を同定することが可能であった。

**考察:**今回開発した MAS-PCR 法はシーケンス法よりも高感度な変異検出法であり、FFPE 抽出 DNA においても検出可能であった。委託可能な検査法はそれぞれ別々に検出する系であり、ダイレクトシーケンスベースのものが多く FFPE 検体は不可である。したがって我々の方法は簡便さ、コストにおいて優位であると考えられる。

**結語:**MCD および N1 サブタイプの DLBCL 患者のスクリーニングに有用な MAS-PCR を開発した。  
“連絡先—0836-85-3753”