

CBF 白血病における Multiplex ddPCR を用いた高感度 *KIT* D816 変異解析

◎水田 駿平¹⁾、吉田 沙耶¹⁾、万代 範子²⁾、渡邊 麻美¹⁾、高嶋 宏滋¹⁾、大橋 侑加¹⁾、上霜 剛¹⁾
兵庫県立尼崎総合医療センター¹⁾、兵庫県立西宮病院²⁾

[背景]急性骨髄性白血病 (AML) は遺伝子型に基づいて病型が分類される。*RUNX1::RUNX1T1*、*CBFB::MYH11* 融合遺伝子を伴う病型は CBF 白血病と呼ばれ、一般的に予後良好群に属するが、*KIT* 遺伝子の D816 変異は予後不良因子として報告されている。しかし *KIT* 変異の変異 allele burden (AB) が低値の症例も報告されており、その場合は一般的な変異解析法であるダイレクトシーケンシング (Seq) では検出できない。そこで droplet digital PCR (ddPCR) 法を用いた *KIT* D816 変異の解析を確立し、その性能を評価するとともに、CBF 白血病患者検体を測定することで高感度 *KIT* 変異解析法を採用する意義を検討した。

[対象]*RUNX1::RUNX1T1* 陽性の 16 例、*CBFB::MYH11* 陽性の 6 例。

[方法]患者骨髄血から抽出した DNA を用いて、*KIT* D816 を Seq と ddPCR により解析した。ddPCR では D816V, Y, H を標的とし、AB を算出した。Multiplex ddPCR は通常の ddPCR で使用する primer および probe 試薬を全て混和して測定した。また、性能評価のために変異型 plasmid を野

生型 plasmid により希釈したサンプルを測定し、感度を検定した。

[結果]Seq では全 22 例中 4 例、ddPCR では 10 例で D816 変異を検出した。AB は 0.2%~47%であり、Seq が陰性であった 6 例の AB の最大値は 17.6%であった。Multiplex ddPCR では全ての変異陽性症例においてプロット位置から変異種が同定できたほか、いずれの変異種においても AB が 0.1%以上であれば検出可能であった。CBF 白血病 22 例のうち *KIT* 変異陽性の 7 例、陰性の 8 例を RT-PCR のでモニタリングしたところ、陽性群では 5 例、陰性群では 2 例において RT-PCR の定量値の再上昇が認められた。また、造血幹細胞移植は変異陽性群の 6 例、陰性群の 1 例でのみ施行された。

[結語]*KIT* D816 に対する Multiplex ddPCR は高感度かつ簡易な genotyping 法である。本法を用いることで、CBF 白血病に対して迅速かつ確度の高い臨床判断に貢献できる可能性がある。06-6480-7000